

Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería

**Análisis termodinámico de la cristalización y
recristalización de agua en lomo de cerdo
(*Longissimus dorsi*) durante la congelación a
velocidad variable.**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Doctor

DOCTOR EN INGENIERÍA

Presenta

Rosalía Meléndez Pérez

Centro Universitario Querétaro, Qro. México
Marzo 2014



**Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Doctorado en Ingeniería**

Análisis termodinámico de la cristalización y recristalización de agua en lomo de cerdo (*Longissimus dorsi*) durante la congelación a velocidad variable.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:
DOCTOR EN INGENIERÍA

**Presenta:
Rosalía Meléndez Pérez**

**Dirigido por:
Dr. Rodrigo Rafael Velázquez Castillo y Dr. José Luis Arjona Román**

SINODALES

Dr. Rodrigo Rafael Velázquez Castillo
Presidente (UQA)

Dr. José Luis Arjona Román
Secretario (D. I. T. UNAM)

Dr. Rufino Nava Mendoza
Vocal (UAQ)

Dr. Ramón Gerardo Guevara González
Suplente (UAQ)

Dr. Irineo Torres Pacheco
Suplente (UAQ)

**Dr. Aurelio Domínguez González
Director de la Facultad de Ingeniería**

**Dr. Irineo Torres Pacheco
Director de Investigación y Posgrado**

La conclusión es que sabemos muy poco y sin embargo es asombroso lo mucho que conocemos, y más asombroso todavía que un conocimiento tan pequeño pueda dar tanto poder.

Bertrand Russell

RESUMEN.

RESUMEN.

La cadena del frío es parte importante en la inocuidad de los alimentos, donde son substanciales los procesos de conservación por congelación, sin embargo, la etapa efectiva de congelación solo se ha considerado como una parte insignificante de todo el proceso; la mayoría de los estudios se han enfocado a los efectos provocados por la misma o durante el almacenamiento y/o transporte, pero las explicaciones relacionadas con una negativa a la recongelación, centran su enfoque a cambios principalmente microbiológicos y no en sí a lo que sucede en el proceso de cambio de fase del agua. Así mismo, se sabe que el efecto de la formación de escarcha superficial en alimentos y específicamente en carne, debe ser considerada como parte de la aplicación de la cadena del frío en productos congelados, ya que modifica las propiedades termofísicas importantes que perturban la transferencia de calor durante la congelación.

En la revisión bibliográfica se presentan los tópicos relacionados con la carne, desde una perspectiva económica, de composición y de los daños propiciados por una inadecuada conservación; por otro lado se presentan fundamentos de la congelación o cristalización del agua en la carne, así como los procesos térmicos y termodinámicos involucrados, entre otros puntos.

En la metodología se describen las acciones experimentales que permitieron llevar a cabo la investigación.

En este trabajo, se evaluó el cambio de los parámetros termodinámicos en condiciones no isotérmicas y cuasi isotérmicas para establecer las transiciones más importantes en la carne fresca, congelada, recongelada y sus derivados liofilizados hidratados; se adaptaron una serie de criterios no convencionales en el área de alimentos, como es el C_p complejo y el ángulo de fase, que nos hacen confirmar la presencia de cambios en la proteína de la carne por efecto de la congelación y recongelación.

Se comparó el efecto de dos velocidades de congelación, lenta en cámara de congelación por convección forzada y rápida por contacto indirecto con nitrógeno líquido, sobre cambios en proteínas (proteína total, enzimas y mioglobina) con técnicas rápidas de análisis y se confirmó el efecto de los tratamientos térmicos a bajas temperaturas por comparación en el infrarrojo cercano.

En la última parte se consideró importante determinar el deterioro de la carne desde un punto de vista microscópico, como un daño estructural en las fibras de carne por efecto de la congelación; macroscópicamente, como el color, el brillo y la reflectancia, asemejando lo que puede ser perceptible por el ojo humano. Estas variables fueron influenciadas por la escarcha que se formaba en la superficie por lo que, durante la congelación con fluctuación de temperatura, fue medido el espesor y determinadas las propiedades termofísicas que afectan directamente a los cambios microestructurales. Así mismo se adaptó una secuencia de análisis de textura estadística, basada en imagen, para determinar el efecto de las estructuras superficiales formadas en la escarcha.

Todas estas actividades fueron encaminadas a demostrar el efecto de las malas prácticas durante la congelación, dando respuesta científica y tecnológica; además para explicar y fundamentar los aspectos termodinámicos y termofísicos relacionados con la aplicación del método de conservación.

Palabras clave: **congelación, termodinámica, carne.**

*Debe ser simple para ser cierto. Si no es simple,
probablemente no podremos descifrarlo.*

Albert Einstein

SUMMARY.

SUMMARY.

Traditionally has been referred to the cold chain is an important part in food safety; however, the effective freezing stage is only considered as an insignificance part of the whole process. Many studies have focused on the frozen effects caused during storage or transport. The associated explanations relating to a refusal to the re-freezing practice focus its approach to microbiological changes not whether to what happens in the water phase change process.

Likewise, it is known that the effect of surface frost formation in food and specifically in meat, must be considered as part of the cold chain implementation, that modifies important thermo physical properties, which disrupt the heat transfer during freezing.

The literature review presents the topics related to meat, from an economic perspective, composition and damages propitiated by inadequate preservation. On the other hand, presents the meat water freezing and crystallization fundamentals, as well as the involved thermal and thermodynamics processes, among other things.

The methodology describes the experimental procedures that allowed carrying out the research.

In this work, the changes in thermodynamic parameters, in non-isothermal and quasi isothermal conditions, was assessed to establish the most important transitions in the fresh, frozen, re-freezing meat and their freeze-dried hydrated; a series of not conventional criteria in the food area, as it is the complex C_p and the phase angle, were adapted, confirming the presence of changes in the meat protein caused by the freezing and refreezing process.

The effects of two freezing rate on the changes in proteins (total protein, enzymes and Myoglobin) were compared: the slow rate by a freeze chamber with forced convection, and quick rate by indirect liquid nitrogen contact. The analyses

were made with quick techniques and to confirm the low-temperature treatments effects, were used the near-infrared spectroscopy.

In the latter part, it was considered important to determine the meat deterioration from a microscopic point of view, such as structural damage to meat fibres by the freezing effect; macroscopically, such as color, brightness and the reflectance, similar to what may be perceived by the human eye. These variables were influenced by the frost formed on the surface, and during the freezing with temperature fluctuation, the thickness was measured and determined the thermo physical properties that directly affect the microstructural changes. Likewise, an analysis sequence for statistical texture, based on image, were adapted to determine the effect of surface structures formed in the frost.

All these activities were aimed at demonstrating the effect of bad freezing practices, providing a scientific and technological response; in addition to explain and substantiate the thermodynamic and thermo physical aspects relating to the implementation of the preservation method.

Key Word: freezing, thermodynamics, pork meat.

Estudia no para saber más sino para saber algo mejor.

Lucio Anneo Séneca.

DEDICATORIAS.

DEDICATORIAS.

Todo tiene un porqué y un para que.

Dedicó este esfuerzo a:

Los hombres importantes de mi vida, en orden de aparición:

A mi Papi, por la perseverancia, las ganas de vivir y por mostrarme que hay siempre que luchar por lo que se quiere.

A José Luis, por la inteligencia, congruencia, entereza y consistencia. Nos ha costado trabajo encontrar la “felicidad” pero allí vamos.

A Bruno, por hacerme entender que la vida puede verse de otra forma y que no hay necesidad de complicarla y por lo “larga” que es media hora.

Gracias por permitirme amarlos y sentirme amada.

A mis hermanos, sobrinos y sobrinos nietos, por darme grandes momentos de felicidad.

A los Arjona, por hacerme parte de la familia.

A quienes no están físicamente conmigo pero si en mi corazón.

A mis amigos por mostrarme lo valioso de la amistad, por su entereza y porque cada uno de ustedes me ha dado en los momentos importantes el apoyo, consejo, ayuda, comprensión y en muchos casos el aliento para seguir. Siempre serán parte importante en mi vida.

A mis ex alumnos y alumnos de la UNAM, porque también por ellos me lancé a esta “aventura”. Gracias por todas las experiencias vividas y todo lo que he aprendido de y con ustedes.

Dedicó este esfuerzo a cada uno de Uds. porque ahora entiendo que el “para que” fue para hacer de mí una mejor profesionista y persona. Los quiero, admiro y respeto.

Rosalía.

Todo va a estar bien al final. Si no está bien, no es el fin.

John Lennon

AGRADECIMIENTOS.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a la Universidad Autónoma de Querétaro por darme la oportunidad de concluir esta parte de mi formación. A todos los Doctores y Profesores que fueron mis “maestros” en los que vi la pasión con la cual defendían sus ideales y que hicieron mi estancia en la Facultad de Ingeniería una de las experiencias más enriquecedoras.

Un agradecimiento especial a mis sinodales por todas sus atenciones y apoyo, principalmente al Dr. Velázquez Castillo.

A mis compañeros de generación, por hacerme la vida “estudiantil” más placentera.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, gracias por las facilidades y por permitirme contribuir en la formación de personas que también darán la cara por la Máxima Casa de Estudios. Y principalmente por toda una vida con ella y en ella.

A las personas que de una forma u otra me ayudaron a culminar este sueño y que por fortuna son tantas que no las nombro por no emitir a alguna.

A los proyectos PAPIIT - IT203212, PAPIME - PE202010.

A Dios y a la vida les agradezco que a pesar de los pesares, a pesar de los dolores físicos, anímicos y psicológicos, haya valido la pena hacer este proyecto, que es la conjunción de esfuerzos de instituciones y personas.

*La vida no se trata de tener buenas respuestas,
se trata de tener preguntas interesantes.*

Paulo Coello

INDICE.

INDICE.

	Página
RESUMEN.	i
SUMMARY	iv
DEDICATORIAS	vii
AGRADECIMIENTOS	ix
ÍNDICE	xi
ÍNDICE DE CUADROS.	xvi
ÍNDICE DE FIGURAS.	xix
I INTRODUCCIÓN.	1
I.1 Hipótesis	5
I.2. Objetivo General	6
I.3. Objetivos Particulares	6
II REVISIÓN DE LITERATURA.	7
II.1. Marco comercial de la carne de cerdo.	8
II.1.1. Situación Mundial.	9
II.1.2. Intercambio comercial.	11
II.1.3. Contexto Nacional de la carne de cerdo.	12
II.1.4. Panorama económico de la carne de cerdo congelada.	15
II.1.5. Marco normativo en México para la producción de carne de cerdo	17
II.1.6. Cadena del frio y trazabilidad.	22
II.2. Fundamentos del proceso de congelación.	27
II.2.1. Métodos de congelación.	28
II.2.2. Transferencia de calor y masa durante la congelación.	30
II.2.3. Función del agua en la congelación, morfología y propiedades mecánicas de los cristales de hielo.	35
II.3. Termodinámica de la congelación.	44
II.3.1. Nucleación.	45
II.3.2. Velocidad de congelación.	52
II.3.3. Crecimiento y tamaño de cristal de hielo por efecto de la congelación.	55
II.3.4. Efecto del tamaño de cristal.	59

II.3.5.	Recristalización.	63
II.3.6.	Efecto de las fluctuaciones de temperatura y formación de escarcha en la congelación de la carne.	66
II.4	Composición estructural y química de la carne.	70
II.4.1.	Composición estructural.	70
II.4.2.	Composición química y la funcionalidad de sus elementos.	73
II.4.3.	El deterioro de la carne.	85
II.5	Técnicas instrumentales para determinación de efectos de congelación.	92
II.5.1	Parámetros termofísicos del proceso de congelación en la carne.	92
II.5.2.	Calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC).	96
III	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.	100
III.1.	Hipótesis, Objetivo general y particulares.	101
III.2.	Desarrollo experimental.	102
III.2.1.	Actividades preliminares.	105
III.2.1.1.	Parámetros de control de materia prima.	105
III.2.1.2.	Validación de termopares.	106
III.2.1.3.	Liofilización de muestras de carne.	107
III.2.1.4.	Caracterización de Cámara de Congelación.	108
III.2.1.5.	Adaptación de la cámara de congelación por Nitrógeno líquido.	109
III.2.2.	Objetivo particular 1.	110
III.2.2.1.	Determinación de parámetros termodinámicos durante la congelación en condiciones no isotérmicas.	110
III.2.2.2.	Análisis térmico en condiciones cuasi isotérmicas.	111
III.2.3.	Objetivo particular 2.	112
III.2.3.1.	Determinación de perfiles de temperatura.	113
a)	Determinación de velocidad de congelación	113
b)	Determinación de difusividad térmica.	114
III.2.3.2.	Cambios enzimáticos.	115
a)	Mioglobina.	115
b)	Proteína total.	116

c)	Actividad de Aspartato aminotransferasa (AST) y Alanin aminotransferasa (ALT).	117
d)	Actividad de Lactato deshidrogenasa (LDH).	118
III.2.3.3.	Efecto de congelación por infrarrojo cercano.	119
III.2.4.	Objetivo particular 3.	120
III.2.4.1.	Efecto de fluctuación de temperatura en la congelación con circulación forzada.	120
a)	Color.	120
b)	Brillo y reflectancia o luminancia.	121
III.2.4.2.	Análisis Morfológico.	122
a)	Congelación en cámara de convección forzada.	123
b)	Congelación por contacto indirecto con Nitrógeno líquido.	124
III.2.4.3.	Comportamiento de la formación-fusión de escarcha de hielo sobre carne congelada.	124
a)	Congelación en cámara de convección forzada.	124
b)	Congelación por contacto indirecto en Nitrógeno líquido.	125
c)	Propiedades termofísicas de la escarcha.	127
III.2.4.4.	Análisis de imagen por textura estadística.	128
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	131
IV.1.	Actividades preliminares.	132
IV.1.1.	Parámetros de control de materia prima.	132
IV.1.2.	Validación de termopares.	134
IV.1.3.	Caracterización de cámara de congelación.	134
IV.2.	Objetivo particular 1.	135
IV.2.1.	Parámetros termodinámicos durante la congelación.	135
IV.2.1.1.	Análisis térmico de carne bajo condiciones no isotérmicas.	135
a)	Análisis de la congelación a partir de la fusión.	135
b)	Verificación de las condiciones experimentales.	138
IV.2.2.2.	Determinación de transiciones en carne fresca, congelada y recongelada y sus liofilizados.	141
a)	Carne sin liofilizar.	141
b)	Carne liofilizada.	150
IV.2.3.	Análisis térmico de carne bajo condiciones cuasi-isotérmicas.	153

IV.2.3.1	Carne sin liofilizar.	154
IV.2.3.2.	Carne liofilizada e hidratada.	157
IV.2.3.3.	Angulo de fase del Flujo de calor para carne.	161
IV.3.	Objetivo particular 2.	165
IV.3.1.	Determinación de perfiles de temperatura para velocidad de congelación y difusividad térmica.	165
IV.3.2.	Cambios enzimáticos.	169
IV.3.2.1.	Compuestos hémicos.	169
IV.3.2.2.	Proteína total.	171
IV.3.2.3.	Enzimas.	172
IV.3.2.4.	Infrarrojo cercano.	174
IV.4.	Objetivo particular 3.	176
IV.4.1.	Efecto de fluctuación de temperatura en la congelación con circulación forzada.	177
IV.4.1.1.	Color.	178
IV.4.1.2.	Brillo y reflectancia.	185
IV.4.2.	Análisis Morfológico.	189
IV.4.2.1.	Congelación en convección forzada.	189
IV.4.2.2.	Congelación con Nitrógeno líquido.	199
IV.4.3.	Comportamiento de la formación-fusión de escarcha de hielo sobre carne congelada.	201
IV.4.3.1.	Espesor de la escarcha en función al tiempo de muestreo en congelación por convección forzada.	202
IV.4.3.2.	Comportamiento de la escarcha en fusión.	204
IV.4.3.3.	Propiedades termofísicas de la escarcha.	212
IV.4.3.4.	Comparación de escarcha en función al tiempo de fusión en Nitrógeno líquido y congelación en convección forzada.	217
IV.4.4.	Análisis de imagen por textura estadística.	221
IV.4.4.1	Efecto del tiempo de muestreo sobre parámetros texturales.	222
IV.4.4.2.	Efecto de la descongelación sobre parámetros texturales.	225
CONCLUSIONES.		232
APENDICES.		234
BIBLIOGRAFÍA.		243

*Con fuerza de voluntad se puede hacer cualquier cosa.
Con fuerza de voluntad uno puede determinar su propio destino.*

Max Planck

INDICE DE CUADROS.

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
2.1.	Exportaciones e importaciones de carne de cerdo congelada.	17
2.2.	Variación de estructuras cristalinas en función a la temperatura	42
2.3.	Ecuaciones relacionadas con el tamaño de cristal.	58
2.4.	Composición general de la carne de cerdo magra	74
2.5.	Efecto del frio en carnes	87
3.6.	Condiciones experimentales para análisis no isotérmico.	110
3.7.	Ecuaciones de predicción de las propiedades termofísicas de la escarcha.	126
3.8.	Matriz de co-ocurrencia	129
3.9.	Elementos de matriz de co-ocurrencia	130
4.10.	Parámetros de control de materia prima	132
4.11.	Ecuaciones de corrección para termopares	134
4.12.	Resultados de ANOVA de 1 vía para velocidad del aire al interior de cámara de congelación.	135
4.13.	Temperaturas de desnaturalización y entalpia en carne fresca, congelada y recongelada.	142
4.14.	Temperaturas iniciales, máximas, finales y entalpías para muestras corridas a partir de flujo de calor no reversible.	146
4.15.	Cp de las muestras de carne tratadas térmicamente.	149
4.16.	Temperaturas de desnaturalización y entalpia en carne fresca, congelada y recongelada liofilizadas.	151
4.17.	Cambio de concentración de mioglobina por diferentes tratamientos térmicos.	169

4.18.	Valores de absorbancia en carne fresca, congelada y recongelada.	175
4.19.	Comparación de los parámetros de color entre congelación, descongelación y recongelación.	183
4.20.	Ecuaciones de ajuste del área de daño	192
4.21.	Características de la escarcha en congelación en cámara de convección forzada.	204
4.22.	Ecuaciones de predicción de propiedades termofísicas de la escarcha en congelación en Nitrógeno y en cámara de convección forzada.	219
4.23.	Ecuaciones de tendencia ajustada para variables de textura estadística en función al tiempo de fusión de escarcha.	228
4.24.	Ecuaciones de correlación entre textura estadística y espesor de escarcha.	231

*Todo gran avance de la ciencia es el resultado de una nueva
audacia de la imaginación.*

Anónimo

ÍNDICE DE FIGURAS.

INDICE DE FIGURAS.

Figura	Página
2.1. Producción de ganado en pie.	8
2.2. Principales países productores de carne de cerdo en 2012.	10
2.3. Consumo per cápita de carne de cerdo (kg/persona/año).	10
2.4. Producción Nacional de carne de cerdo, 2000-2012.	12
2.5. Principales Estados Productores de carne de cerdo en canal.	13
2.6. Importaciones y Exportaciones de carne de cerdo congelada.	16
2.7. Curva característica de congelación del agua y alimento.	28
2.8. Esquemmatización de transferencia másica y térmica en congelación	31
2.9. Diagrama de estado donde se muestran los diferentes estados de los alimentos	38
2.10. Diagrama de fases del agua	39
2.11. Distintas formas del hielo en función a la temperatura	41
2.12. Distribución de temperaturas para crecimiento dendrítico	42
2.13. Energía libre molar en función a la temperatura.	46
2.14. Cambio de energía libre	47
2.15. Efecto del ángulo para formación de embriones.	47
2.16. Términos que considera la nucleación heterogénea	49
2.17. Esquemmatización de 3 velocidades de congelación	54
2.18. Organización de fibras musculares.	71
2.19. Sarcómero y principales proteínas de la carne, en sección transversal	82
2.20. Estructura de una molécula de miosina	83
2.21. Modelo molecular de cintas de actina de músculo esquelético	84
3.22. Desarrollo experimental del objetivo particular 1	102
3.23. Desarrollo experimental del objetivo particular 2	103
3.24. Desarrollo experimental del objetivo particular 3	104

3.25.	Zonas de trabajo para control de color de materia prima	106
3.26.	Cámara de congelación de convección forzada.	108
3.27.	Fotografía de cámara de congelación por $N_{2(L)}$.	109
3.28.	Colocación de termopares para determinación de difusividad térmica	113
3.29.	Maya MxN con condiciones de Dirichlet.	114
3.30.	Medición de brillo y luminosidad	122
3.31	Sobre posición de imágenes para determinación de espesor de escarcha para congelación en cámara de circulación forzada	125
3.32.	Fotografías para análisis de escarcha.	127
4.33.	Termogramas de cristalización y fusión en carne de cerdo fresca,	137
4.34.	Gráfico de Lissajous para carne fresca en condiciones no isotérmicas	139
4.35.	Gráfico de Modulación para carne fresca en condiciones cuasi-isotérmicas.	140
4.36.	Gráfico de Modulación para carne liofilizada en condiciones cuasi-isotérmicas.	140
4.37.	Termogramas de Flujo de calor total en MDSC de carne fresca, congelada y recongelada. Muestras de cámara de convección forzada y por contacto indirecto en nitrógeno.	141
4.38.	Flujo de calor no reversible en función a la temperatura para muestras de carne	145
4.39.	Análisis de 2 vías para la comparación de parámetros termofísicos en carne tratada térmicamente	147
4.40.	Comportamiento de capacidad calorífica en las diferentes muestras tratadas térmicamente.	148
4.41.	Comparación de cambios en C_p después de los tratamientos térmicos a bajas temperaturas.	149
4.42.	Termogramas para carne fresca, congelada y recongelada liofilizadas	152
4.43.	Capacidad calorífica para muestras de carne liofilizadas.	153
4.44.	Comportamiento de Flujo de Calor de muestras de carne en función a la temperatura.	156

4.45.	Comportamiento de Flujo de calor de muestras de carne en función al tiempo.	157
4.46.	Comportamiento de variables en análisis quasi-isotérmico en carne fresca liofilizada e hidratada.	159
4.47.	Comportamiento del flujo de calor total para las muestras frescas, congeladas y recongelada liofilizadas e hidratadas.	160
4.48.	Comportamiento de la capacidad calorífica para las muestras frescas, congeladas y recongelada liofilizadas e hidratadas.	161
4.49.	Fase de flujo de calor en carne fresca, congelada y recongelada; liofilizadas e hidratadas.	162
4.50.	Cp reversible y Fase de Flujo de calor. (A) Carne fresca (B) Carne congelada y (C) Carne recongelada; liofilizadas e hidratadas.	163
4.51.	Comportamiento de Cp fuera de fase para carne fresca, congelada y recongelada; liofilizadas e hidratadas.	164
4.52.	Perfiles térmicos de congelación en cámara de convección forzada y contacto indirecto en nitrógeno líquido.	166
4.53.	Perfiles térmicos de congelación – recongelación en cámara de convección forzada.	167
4.54.	Difusividad térmica de carne a temperaturas de congelación.	168
4.55.	Comparación de los cambios de mioglobina debidos a los diferentes tratamientos térmicos.	171
4.56.	Comparación de los cambios de mioglobina debidos a los diferentes tratamientos térmicos.	172
4.57.	Comparación de los cambios enzimáticos en función a los tiempos de muestreo en congelación criogénica y por circulación forzada.	173
4.58.	Espectro NIR de muestras de carne fresca, congelada y recongelada.	174
4.59.	Perfiles térmicos de congelación de carne	177
4.60.	Carne en congelación en cámara de circulación forzada. Tiempo de muestreo 3 min.	179
4.61.	Carne en descongelación, Temperatura ambiente. Tiempo de muestreo 3 min.	180
4.62.	Carne en recongelación en cámara de circulación forzada.	181

4.63.	Diferencia de color (ΔE), claridad (ΔC^*) y matiz (ΔH^*) en la congelación, descongelación y recongelación con fluctuación de temperatura.	182
4.64.	ANOVA para (ΔE), (ΔC) y (ΔH^*) en la congelación, descongelación y recongelación con fluctuación de temperatura.	184
4.65.	Comportamiento del brillo durante la congelación, descongelación y recongelación.	186
4.66.	Comportamiento de la reflectancia durante la congelación, descongelación y recongelación.	188
4.67.	Comportamiento del aumento de área original y corregida del daño provocado por la congelación.	190
4.68.	Análisis estadístico para el daño por área total	193
4.69.	Gráfico de caja y bigote para las áreas en muestreo de 3 minutos	194
4.70.	Comparación de comportamiento estadístico en condición de muestreo a 83 min.	195
4.71.	Microfotografías (30X) para la determinación del daño a diferentes tiempos de muestreo.	196
4.72.	Comportamiento del área en función de la temperatura.	198
4.73.	Microfotografías (40X) para la determinación del daño a diferentes tiempos de congelación en N_2 .	199
4.74.	Gráfico de caja y bigote para las áreas en Congelación indirecta.	200
4.75.	Macrofotografías de escarcha de carne en la congelación en cámara de circulación forzada.	202
4.76.	Variación de temperatura en función a la apertura y cierre de puerta en la formación de escarcha superficial.	203
4.77.	Variación del espesor en función al tiempo de fusión de escarcha de carne congelada en cámara de circulación forzada.	205
4.78.	Variación del espesor en función al tiempo de fusión de escarcha de carne congelada en N_2 .	207
4.79.	Comparación de las variaciones del espesor de escarcha en función al método de congelación.	209
4.80.	Comparación de las variaciones del espesor de escarcha en función al tiempo de fusión de carne congelada en cámara de circulación forzada.	210

4.81.	Comparación de las variaciones del espesor de escarcha en función al tiempo de fusión de carne congelada en N ₂ .	210
4.82.	Comportamiento del hielo en la escarcha analizada durante el proceso de congelación en función a la Temperatura superficial de la carne.	213
4.83.	Temperatura superficial de la carne y Temperatura en el centro térmico de la carne durante la congelación.	214
4.84.	Comportamiento del hielo en la escarcha analizada durante el proceso de congelación en función al espesor.	215
4.85.	Propiedades la escarcha analizada durante la fusión en función al espesor.	216
4.86.	Propiedades la escarcha analizada durante el proceso de congelación en función al tiempo.	216
4.87.	Comparación de la temperatura superficial de la escarcha en fusión entre N ₂ y cámara de circulación forzada.	217
4.88.	Comparación de la densidad de la escarcha en fusión entre N ₂ y cámara con circulación forzada.	218
4.89.	Comparación de la porosidad de la escarcha en fusión entre N ₂ y cámara con circulación forzada.	219
4.90.	Análisis de textura estadística durante la congelación con toma de muestras cada 3 min.	223
4.91.	Relación entre ASM y la temperatura de carne durante la congelación.	225
4.92.	Comparaciones de parámetros texturales entre carne fresca, congelada y recongelada.	226
4.93.	Fotografías sometidas a análisis de textura estadística en descongelación.	227
4.94.	Gráficas de dispersión de parámetros de textura estadística en función al espesor de la escarcha en congelación por N ₂ ,	230

Lo que sabemos es una gota de agua; lo que ignoramos es el océano.

Isaac Newton

I. INTRODUCCIÓN.

I. INTRODUCCION.

México, dentro del panorama mundial, se ubica dentro de los primeros veinte productores de carne de cerdo, es el quinto país proveedor de Japón, e importó en 2012 más de 600 mil toneladas de carne, cifra que equivale a 32.8 % de lo que se consume de forma interna. Cerca de 80 % de la carne exportada en 2011 correspondió a carne congelada; la carne fresca o refrigerada aportó 16.9 %, la procesada 2.2 % y los despojos 1.4 %. En este mismo año, el 53.7 % de la carne importada fue carne fresca o refrigerada, de la cual el 26.2 % correspondió a despojos, 10.4 % a carne procesada y 9.7 % a carne congelada.

La congelación es uno de los métodos de conservación más utilizados en biomateriales como la carne, se basa en la cristalización del agua líquida, a temperaturas inferiores a los 0°C; sin embargo no debe contemplarse como un cambio de estado del agua, es conveniente definirla como una serie de eventos termodinámicos, físicos y químicos interrelacionados, que modifican las características percibidas por el consumidor, ya sea en cambios de textura, sabor, color y en la cantidad y composición de exudados después de la descongelación. Éste proceso alarga la vida útil de la carne al disminuir la actividad de agua, detiene la proliferación de microorganismos y la actividad de la mayoría de las enzimas, sin embargo, al existir fluctuación de temperaturas y cambios en humedad relativa del ambiente durante el proceso, se presenta el fenómeno de recristalización que conlleva a la formación superficial de escarcha por ablimación, ocasionando una aparente e irreversible deshidratación que favorece nuevamente cambios en propiedades del material.

La carne, al ser un material biológico multicomponente, con alto contenido de agua, proteínas, carbohidratos, grasas y sales, afecta la velocidad y formación de cristales de hielo en el cambio de fase, el tamaño, la localización y la forma de los mismos; la cantidad de energía requerida para formar los núcleos y la temperatura inicial de cristalización, variables, que en conjunto están ampliamente vinculadas con

los cambios estructurales (cambios morfológicos, destrucción o distorsión celular), cambios químicos (desnaturalización de proteínas y pérdida de calcio) y cambios en propiedades fisicoquímicas (calor específico (C_p), conductividad térmica (k), entalpía (H), entre otros); siendo aquí donde la velocidad de remoción de calor es decisiva. En este sentido, por la complejidad del proceso, no se ha encontrado información referente al análisis específico de la etapa de cambio de fase ya que generalmente se encuentran investigaciones relacionadas con el efecto del almacenamiento, o de la velocidad de congelación sobre diferentes parámetros enfocados principalmente a cambios en composición química.

Durante el almacenamiento, transporte, venta al menudeo o en el consumo, ocurren ciclos repetidos de descongelación - congelación, que rompen la cadena de frío, lo que propicia un mayor deterioro. Estas fluctuaciones de temperatura, a la fecha no han sido estudiadas a lo largo del proceso de congelación y principalmente en la etapa de cambio de fase del agua.

Resulta interesante así, el enfoque de estudio hacia el efecto de la velocidad de formación de cristales de hielo en la matriz cárnica, principalmente para el análisis del comportamiento termodinámico en condiciones no isotérmicas y cuasi-isotérmicas y el efecto de la fluctuación de temperatura en cuanto a formación de escarcha. Las variables de respuesta seleccionadas evalúan la modificación estructural por análisis de imagen y morfológico; las variaciones en perfiles enzimáticos, la modificación de parámetros de calidad en material fresco, durante su congelación, después de recongelación y en carne liofilizada para dar una explicación científica el efecto de la ruptura de la cadena de frío en este material alimenticio.

Daría todo lo que sé, por la mitad de lo que ignoro.

Rene Descartes

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

I.1. HIPÓTESIS

La velocidad de crecimiento de cristales de agua durante la congelación de la carne está directamente relacionada con cambios estructurales y de comportamiento de variables térmicas.

I. 2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la velocidad de formación de cristales de agua y condiciones de ablimación en cortes de cerdo (*Longissimus dorsi*), mediante el análisis del comportamiento de variables térmicas y estructurales y el efecto de formación de escarcha superficial.

I. 3. OBJETIVOS PARTICULARES

- 1- Evaluar los parámetros termodinámicos en la congelación y recongelación para el análisis de la transición de fase, contrastando el proceso en condiciones no isotérmicas y cuasi-isotérmicas.
- 2- Determinar los cambios enzimáticos y de composición asociados al proceso de congelación a dos velocidades y el efecto de la recongelación para establecer los daños causados en la matriz cárnica.
- 3- Establecer el efecto de la congelación y la formación superficial de escarcha durante la congelación, para determinar cambios macro y micro estructurales.

*El verdadero hecho del descubrimiento no consiste en encontrar nuevas tierras,
sino verlas con nuevos ojos.*

Marcel Proust

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

II. 1. Marco comercial de la carne de cerdo.

El cerdo o porcino se cría en casi todo el mundo, principalmente como fuente de alimento, por su alto valor alimenticio y alto contenido en proteínas. En México, la producción de carne de cerdo no se realiza con animales de razas puras, sino con las cruas de éstas, llamadas hibridaciones; entre las principales razas que sirven para ello están Duroc, Landrace, Hampshire, Chester White, Yorkshire, y Pietrain.

La cantidad producida de cerdo en pie ha disminuido desde los años ochenta, al igual que las existencias, lo que se debe a la competencia con otro tipo de proteínas, principalmente la carne de pollo, que tiene un menor precio. Mientras que la producción de cerdo en pie disminuyó en cerca de 21 % entre 1983 y 2010, la producción de pollo en pie creció en casi 450 % y la producción de bovino en canal aumentó en cerca de 71 %, como puede verse en la Figura 2.1.

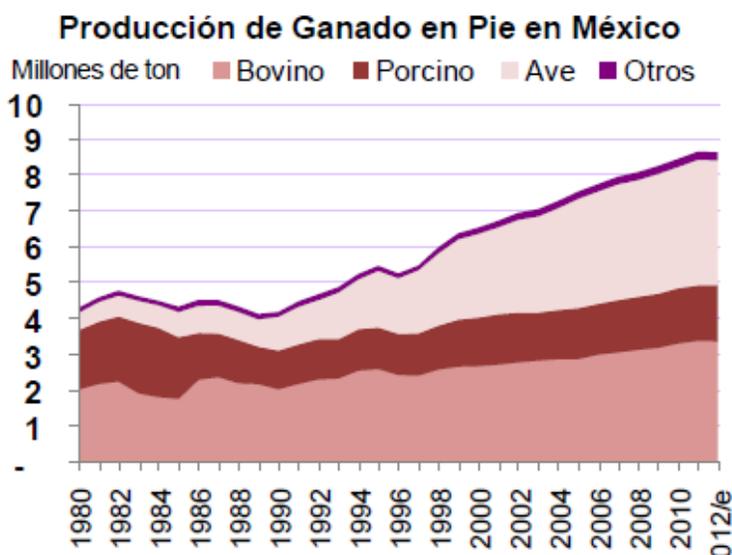


Figura 2.1. Producción de ganado en pie. (SIAP, (2010), SAGARPA, (2010)).

Dentro de las perspectivas para el sector agropecuario de México (SFA-SAGARPA, 2011), se tiene que para el 2013, se tendría una producción de 1255 miles de toneladas (m ton) con un consumo de 1955.4 m ton.

II.1.1 Situación Mundial.

La carne de cerdo es la más producida en el mundo, al tener una participación cercana al 40 % del volumen total de cárnicos. En el periodo 2001-2011 la producción de carne en el mundo creció a una tasa media anual de 1.7 %. Durante 2011, la totalizó 101.7 millones de ton (M ton), que en relación con 2010 representa una caída del 1.2 %. Sin embargo, para el 2012, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) estimó una producción de 104.4 M ton de carne de cerdo, lo que representa un crecimiento del 2.7 %.

El 81.2 % de la producción mundial de carne de cerdo se concentra en China, la Unión Europea (27 países) y Estados Unidos. Así, durante 2011, China produjo 49.5 M ton de carne de cerdo, que representaron 48.7 % del total. Para el 2012, las expectativas de producción de China presentaron un crecimiento anual del 4.2 %, que representan 51.6 M ton, la Unión Europea totalizó 22.8 M ton, que representan 22.4 % del total mundial, comportamiento se muestra en la Figura 2. México se ubicó como 10° productor mundial, con una participación de 1.2 %.

En cuanto al consumo per cápita, de acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), el consumo de carne *per cápita* a nivel mundial experimentó cambios importantes en las últimas décadas, pasando de una media de 26 kg en 1970 a 41 kg en los últimos años.

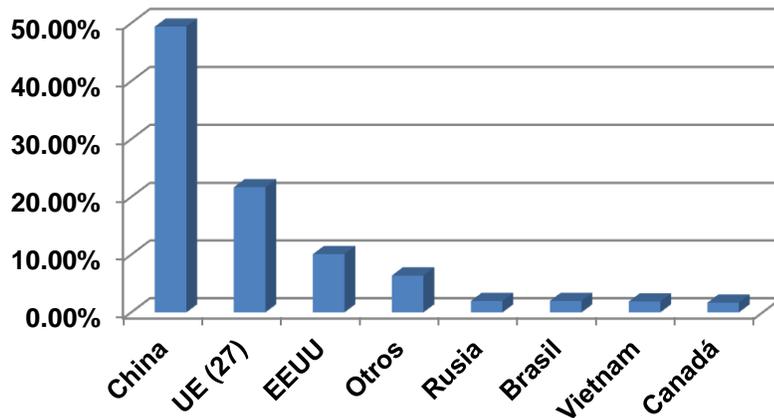


Figura 2.2. Principales países productores de carne de cerdo en 2012. (Fira, 2012).

Según las estadísticas del sector agropecuario y pesquero, 2012 (SIAP, 2012) el consumo por persona muestra variaciones significativas según la región: África registra el menor consumo (16 kg) y Oceanía, el mayor (33 kg). El principal incremento de 1970 a la fecha lo registra el continente asiático con un aumento en el consumo de 23 kg, seguido por América (20) y Europa (18). En la Figura 2.3. se presenta el consumo per cápita mundial.

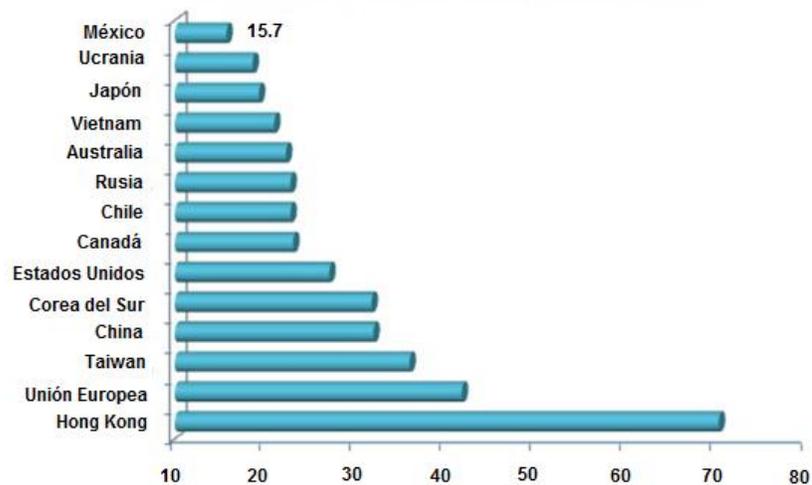


Figura 2.3. Consumo per cápita de carne de cerdo (kg/person/año). (Confederación de Porcicultores Mexicanos, A. C. con información de la USDA-FAO).

II.1.2. Intercambio comercial.

El comercio mundial de carne de porcino ha crecido constantemente durante la última década. En el periodo comprendido entre 2000 y 2011 las exportaciones mundiales de carne de cerdo crecieron a una tasa promedio anual de 8.0 %, para situarse en este último año en 7.0 M ton.

El mercado de exportación de carne de cerdo es dominado por Estados Unidos y la Unión Europea, durante 2011 el volumen exportado de estas dos regiones totalizó 65.3 % del total mundial. Así, durante 2011, Estados Unidos exportó 2.4 M ton, es decir, 33.7 % del total, mientras que la Unión Europea participó con 2.2 M ton, equivalente a 31.6 %. El tercer país en el mercado de exportaciones porcinas es Canadá, al totalizar 1.2 M ton en 2011, o 17.1 % del total.

En 2012, la USDA mostró que Estados Unidos incrementó sus exportaciones en 2.0 %, con 2.4 M ton. Mientras tanto, en la Unión Europea y Canadá presentaron una reducción en el orden del 3.6 % y 1.8 %, respectivamente.

Según lo reportado por la Dirección General Adjunta de Inteligencia Sectorial en relación al Panorama Agroalimentario del 2012, los principales países importadores de carne de cerdo se concentraron en el continente asiático, excepto México. Para 2012 Japón continuó siendo el principal comprador de carne de cerdo, al importar 19.4 % del total mundial, lo que se traduce en 1.3 M ton. El mercado japonés fue deficitario y el 50 % de su consumo doméstico provino de las importaciones. El segundo importador mundial en términos de volumen fue Rusia que presentó una tasa de crecimiento medio de 6.0 % en los últimos diez años; las importaciones rusas se ubicaron en 900 mil ton. El tercer comprador mundial fue China, mismo que ha incrementado sus importaciones en 25.9 % promedio durante la última década. Las importaciones chinas totalizaron 650 m ton, una reducción de 14.2 % en relación a 2011.

México destaca como el cuarto comprador a nivel mundial, al participar durante 2011 con el 10.1 % del total global importado. Para 2012 se importaron 650

m ton, mismo volumen que China, lo que representa un aumento del 9.4 % en relación al 2011.

II.1.3. Contexto Nacional de la carne de cerdo.

Entre 2000 y 2010, la producción de carne en canal mostró una tasa media anual de crecimiento (TMAC) de 1.3 %, ubicándose en 2010 en 1.2 M ton, con un valor de 35,840 millones de pesos. En el 2011, la producción de carne se incrementó en cerca de 0.7 %, respecto a 2010, en tanto, en 2012 se incrementó un 0.9 %. La carne en canal de cerdo es el cuerpo del animal sacrificado, después del sangrado y eviscerado, entero o partido por la mitad, sin lengua, cerdas, pezuñas, genitales, manteca, riñones ni diafragma. Aproximadamente, la carne en canal de cerdo en nuestro país representa un 76 % del peso del cerdo en pie, para 2012, la estimación de producción de SIAP-SAGARPA se ubicó en 1.19 M ton, es decir, un incremento de 0.9 %.

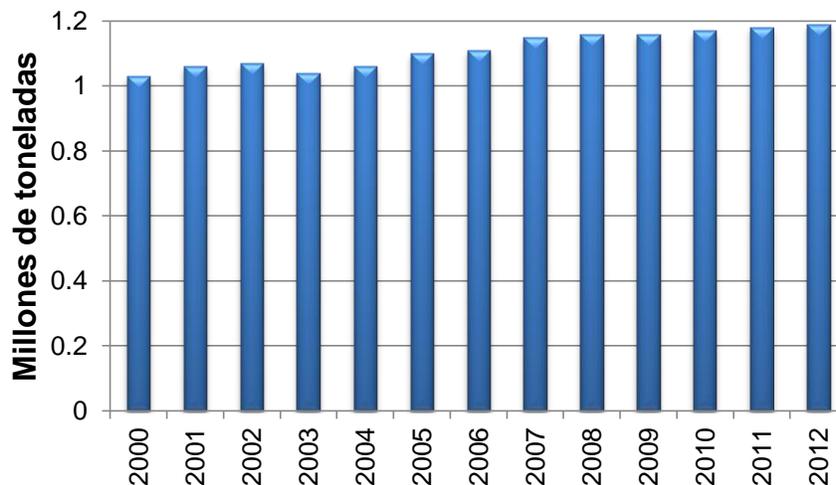


Figura 2.4. Producción Nacional de carne de cerdo, 2000-2012. (FIRA. Con información de SIAP, 2012).

La estructura de participación estatal en la producción de carne de cerdo en nuestro país ubica a Jalisco y Sonora como los principales actores en la producción nacional. Durante 2011, la producción en Jalisco, de acuerdo al avance mensual de

la producción pecuaria al cierre de 2011, totalizó 227.5 m ton de carne en canal producidas, lo que representa 19.2 % del total nacional, un incremento del 2.6 % en relación al año anterior. Por su parte, la producción en Sonora, segundo productor nacional, se ubicó en el mismo año en 223.1 m ton, 18.9 % del total, un crecimiento anual de 4.6 %.

De acuerdo con información de producción 2012, del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (Figura 2.5.), los principales estados productores presentaron un estancamiento al estimar producciones estatales con tasas de crecimiento cero. La producción en Jalisco fue de 227.5 m ton, el mismo nivel que durante 2011. La producción en Sonora y Guanajuato se estimó con reducciones marginales, de 0.8 % y -0.1 %. Destaca que el estado de Puebla presentó un incremento de 13.6 % en su producción local, para ubicarse en 125.3 m ton de carne de cerdo. Entre otras entidades sobresalientes encontramos a Guanajuato (9.4 %), Puebla (9.3 %) y Yucatán (8.4 %).

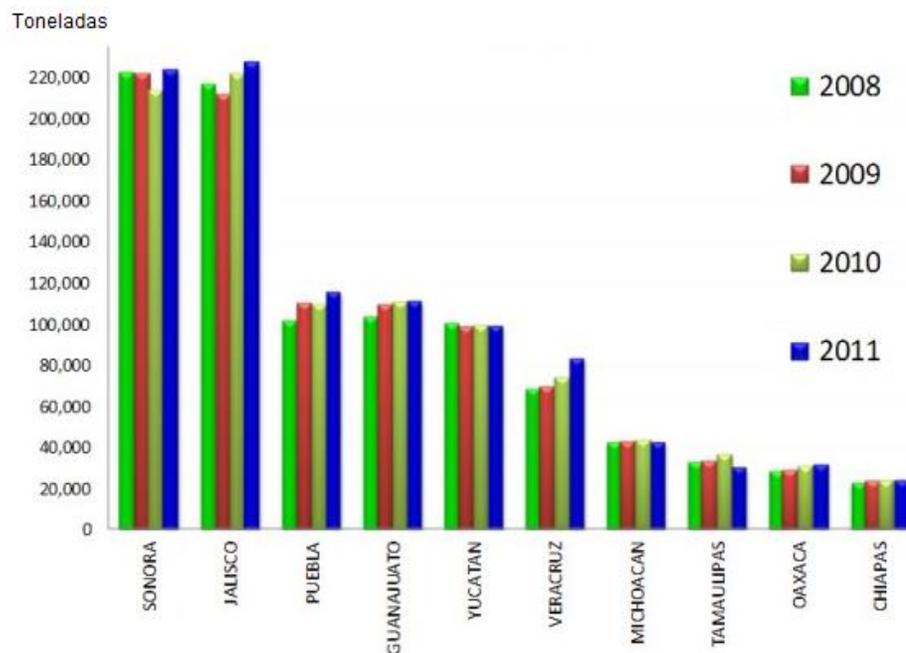


Figura 2.5. Principales Estados Productores de carne de cerdo en canal.
(Confederación de porcicultores Mexicanos, A. C. 2012, elaborado con datos de SIAP).

Cifras proporcionadas por el Grupo Consultor de Mercados Agrícolas (GCMA), indican que entre enero de 2011 y enero de 2012, el precio promedio nacional de cerdo en pie en rastro y de cerdo en canal en obrador se incrementaron en 14.0 % y 19.6 %, respectivamente, alcanzando \$ 28.0 y \$ 34.2 por kg, respectivamente. Sin embargo, los siguientes meses del año 2012, el precio descendió, en 19.2 % el cerdo en pie y en 17.3 % el cerdo en canal, ubicándose en la primera semana de junio en \$21.0 y \$33.9 por kg, respectivamente. El margen entre ambos precios fue en promedio de 56 %, entre 2011 y la primera semana de junio de 2012.

De acuerdo con SAGARPA, la carne de cerdo es la que en mayor medida se destina a la industrialización, para la elaboración de carnes frías, embutidos y preparación de mantecas. El consumo de carne por parte de este sector industrial se estima en 15 % de la producción total nacional. Datos de la Encuesta Mensual de la Industria Manufacturera (EMIM) revelan que, en 2011, la matanza de ganado porcino produjo 17,725 toneladas de carne en canal, cuyo valor generado fue de 540 millones de pesos, cifra que representó el 1.7 % del valor total de la matanza de ganado, aves y otros animales comestibles (31,380 mdp).

En 2011, el corte y empaclado de carne de porcino superó las 260 m ton, 21 % correspondió a cortes sin deshuesar y el 79 % restante a cortes deshuesados. El valor del corte y empaclado ascendió a 7,838 millones de pesos, de los que 29 % fueron generados por los cortes sin deshuesar y 71 % por los cortes deshuesados. El corte y empaclado de carne de porcino constituyó cerca del 59 % del valor total de corte y empaclado de carne de ganado, aves y otros animales comestibles (13,353 mdp). Es importante resaltar que, entre 2007 y 2011, el volumen de producción de los cortes de carne de cerdo se incrementó a una tasa promedio anual de 8.8 %; mientras que la carne en canal disminuyó a un ritmo de 5.0 %, en ese mismo periodo. Lo que indica una búsqueda de mayor agregación de valor en la cadena de porcino por parte de los productores.

II.1.4. Panorama económico de la carne de cerdo congelada.

El 53.7 % de la carne importada por nuestro país en 2011 fue carne fresca o refrigerada, 26.2 % correspondió a despojos, 10.4 % a carne procesada y 9.7 % a carne congelada (en valor: 58.1 %, 16.9 %, 12.9 % y 12.1 %, respectivamente). Los tipos de carne importada de cerdo que mostraron tasas anuales de crecimiento positivas, entre los años 2000 y 2011, fueron la carne fresca o refrigerada (9.9 %), la carne procesada (7.9 %) y los despojos (2.0 %). Caso contrario de la carne congelada, que presentó una disminución anual de 0.7%. En 2011, los principales proveedores de carne de porcino de México fueron Estados Unidos y Canadá, con aportaciones de 87.7 % y 11.2 %, respectivamente. El 1 % restante provino de Chile, España, Dinamarca, Italia y Francia.

El comportamiento de los precios implícitos de las importaciones de carne congelada, procesada, y fresca o refrigerada es muy similar, tanto en tendencia como en valor. En 2011, el precio se ubicó en US\$ 2,360, US\$ 2,352 y US\$ 2,055 por ton, respectivamente. Por su parte, el precio implícito de las importaciones de despojos, se cotizó en US\$ 1,226 la ton.

Entre 2000 y 2011, el volumen de carne de porcino congelada enviada al mercado internacional pasó de 29 a 53 m ton, lo que significó un aumento de 82.5 %. En ese mismo periodo, el valor se incrementó de 112 a 268 millones de dólares. En contraste, las importaciones de carne congelada de cerdo disminuyeron 7.9 %, al caer de 72 a 66 m ton, mientras el valor pasó de 86 a 156 millones de dólares. Como puede verse en la Figura 2.6.

A pesar del incremento de las exportaciones y la disminución de las importaciones, nuestro país continúa siendo un importador neto de carne de cerdo congelada. En 2011, el déficit se ubicó en 13 m ton, con un valor de 112 millones de dólares. En 2011, piernas, paletas, y sus trozos sin deshuesar representaron 1.2 % de las exportaciones de carne de cerdo congelada. El 98.8 % restante correspondió a otro tipo de carne. En ese mismo año, Japón (75.3 %), Corea del Sur (16.7 %) y

Estados Unidos (8.0 %), fueron los tres principales destinos de la carne congelada exportada. Hong Kong y Vietnam adquirieron, en conjunto, menos del 0.1 % del volumen exportado.

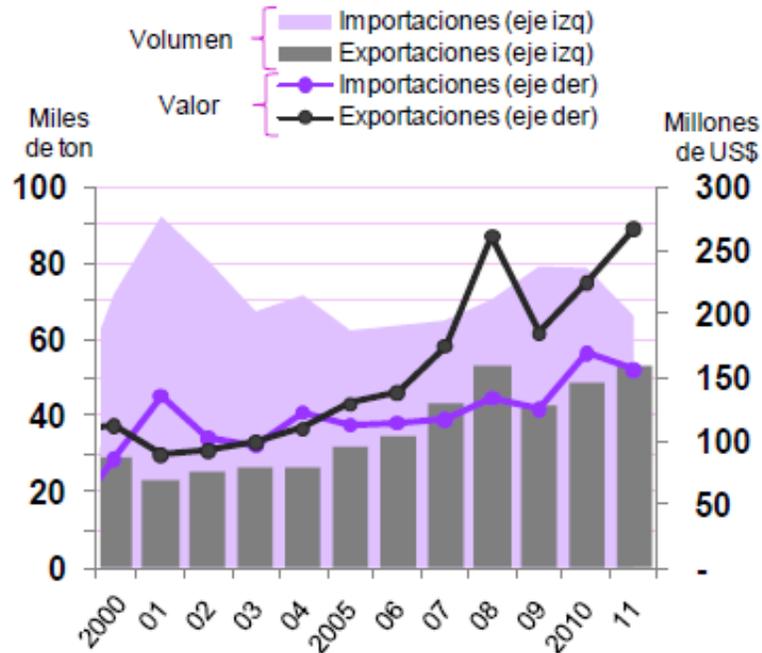


Figura 2.6. Importaciones y Exportaciones de carne de cerdo congelada.
(INEGI y Secretaria de Economía, 2012).

Por otro lado, el 0.1 % de la carne congelada importada fue carne en canal, 4.1 % correspondió a piernas, paletas, y sus trozos sin deshuesar, y el restante 95.8 % a otro tipo de carne. El 90.8 % de las importaciones de carne congelada provino de Estados Unidos, Canadá contribuyó con 7.0 % y Chile con 2.2 %.

El precio implícito de la importación de piernas, paletas, y sus trozos sin deshuesar congeladas se ubicó, en 2011, en US\$1,872 por ton. La tonelada de canales o medios canales congelados se cotizó en US\$2,094 y la de otro tipo de carne congelada en US\$2,381. La carne de porcino representa una gran oportunidad de negocio para los productores mexicanos, ya que el mercado interno requiere una cantidad mayor del cárnico que actualmente se produce.

En el Cuadro 2.1. se presentan las cifras representativas de las exportaciones e importaciones realizadas por México en el periodo de 2000 a 2011.

Cuadro 2. 1. Exportaciones e importaciones de carne de cerdo congelada.

Año	Exportaciones			Importaciones		
	Cantidad (Miles ton)	Valor (Mill US\$)	Precios (US\$/ton)	Cantidad (Miles ton)	Valor (Mill US\$)	Precios (US\$/ton)
2000	29.1	112.4	3855.7	71.9	85.9	1193.9
2001	22.8	89.5	3921.2	92.4	135.8	1469.7
2002	25.1	92.9	3696.1	80.7	102.3	1268.6
2003	26.4	99.7	3775.2	67.4	96.9	1438.2
2004	26.2	110.1	4202.1	71.7	122.5	1709.9
2005	31.6	129.6	4096.7	62.4	112.9	1809.6
2006	34.5	139	4032.1	63.7	114.1	1792.4
2007	43.4	175.4	4046	65	116.6	1797.3
2008	52.9	262.4	4960.5	70.6	134.2	1902.1
2009	42.4	185.5	4371.8	79.3	125.5	1583
2010	48.4	225.3	4654.8	78.9	169.7	2150
2011	53.2	268.1	5042.3	66.2	156.3	2359.9

II.1.5. Marco normativo en México para la producción de carne de cerdo.

Las normas internacionales para productos alimenticios por acuerdo general, son desarrolladas por dos organizaciones: CODEX alimentarius (código alimentario) e ISO (International Organization for Standardization). El CODEX publica normas internacionales que pueden ser usadas para desarrollar leyes y regulaciones nacionales y la ISO desarrolla las normas que son generadas por las necesidades del mercado. Como resultado, las Normas ISO describen el estado de los productos, servicios, proceso, materiales y sistemas y la evaluación de la conformidad.

Los productores mexicanos participantes en la cadena de la carne plantearon certificar la calidad superior del producto a través de la seguridad sanitaria para dar un cumplimiento riguroso de la normatividad oficial vigente en México a través de la adopción de la marca oficial “MEXICO CALIDAD SUPREMA”, en cuanto a la movilización, alimentación y finalización del ganado, así como el procesamiento sanitario en las etapas de sacrificio, corte, deshuese y empaque en plantas Tipo Inspección Federal (TIF); transporte, almacenamiento y comercialización de la carne en condiciones que aseguren la inocuidad desde la finalización del animal hasta la venta al consumidor final (SE, SAGARPA y BANCOMEXT, 2004).

Los atributos que respaldan a la Carne Mexicana TIF, únicamente para alimentos mexicanos, son frescura, calidad (característica esencial del producto, considerada a través de sus atributos como lo son su color, sabor, textura y consistencia), higiene, sanidad (confianza en que los productos cumplen con normas oficiales durante todos sus procesos de producción) e inocuidad (cualidad que tiene un producto al no representar un riesgo para la salud del consumidor). Su producción se enmarca dentro del grupo de normas oficiales mexicanas, ordenamientos jurídicos y especificaciones de proceso o atributos de producto, que propician la obtención de carne de gran aceptación por parte de los consumidores. La marca TIF, cuya propiedad es del gobierno federal, comparte la titularidad con la SAGARPA, la Secretaría de Economía (SE) y el Banco Nacional de Comercio Exterior (BANCOMEXT) (<http://www.mexicocalidadsuprema.com>).

En este marco se establecen definiciones, que son requisitos cualitativos en cuanto a las especificaciones de calidad organoléptica: “Una vez cortado el producto para su exhibición al consumidor final en el punto de venta del detallista, el personal de ventas deberá verificar rutinariamente las características organolépticas de la carne; olor, color y textura, llevando una bitácora de registro que podrá ser verificada por las Unidades de Verificación, conforme a la frecuencia de muestreo adoptada por el Organismo de Certificación Acreditado”, definiciones que se presentan a continuación y que requieren un esclarecimiento cuantitativo para poder ser evaluados.

- **El color muscular.** El color normal de la carne de cerdo fluctúa entre un rojo y rosado. La uniformidad en el color es usualmente apreciable en músculos individuales; cuando se aprecian los músculos en conjunto, el color puede variar considerablemente. El consumidor puede estar en desacuerdo con la variación en el color de la carne, bien sea por demasiado pálidos o demasiado oscuros. El color más oscuro puede resultar de un aumento de Oximioglobina por edad avanzada del animal, músculo o grupo de músculos con mayor actividad fisiológica (músculos flexores o extensores), que haya existido una penetración de oxígeno en la superficie, una posible contaminación bacteriana o una deshidratación en la superficie.

- **Textura:** En los Estados Unidos se han trabajado 5 rangos que han sido adaptados en México:

Rango 1: Muy suave y húmeda (músculo de textura abierta), con acumulación de fluido en la superficie. Se presenta en carnes pálidas y son canales de mala calidad, ya que el producto se encoge durante el procesamiento y queda con poco jugo después del cocido, conocida como carne PSE (pale, soft, exudative; pálida, suave y exudativa).

Rango 2: Suave y húmeda. Similar a la anterior, pero menos severa.

Rango 3: Poco firme y jugosa.

Rango 4: Firme y moderadamente seca.

Rango 5: Muy firme y seca, con estructura rígida y cerrada (sin fluidos en la superficie) y es asociada a carnes oscuras (DFD: dark, firm, dry; obscura, firme y seca)

- **Marmoleo:** Se refiere a la grasa que es visible entre las fibras musculares. La selección en contra del engrasamiento en los cerdos ha llevado a una disminución de los niveles del porcentaje de grasa intramuscular inferiores al 2 % en el lomo a nivel de la última costilla (Cannata y col., 2010).

Existen 5 rangos que son:

Rango 1: Inexistente a casi inexistente (menor al 1 %).

Rango 2: Una que otra fibra o pocas (entre 1-2 %).

Rango 3: Pocas fibras (2-3 %).

Rango 4: Moderado a poco abundante (3-4 %).

Rango 5: Moderadamente abundante (más del 8 %).

Como puede observarse, toda la información se refiere a carne fresca, con definiciones cualitativas y sin encontrarse información referente a carne congelada.

El 29 de abril de 2013, en el Diario Oficial (<http://www.senasica.gob.mx>), comité Consultivo Nacional de Normalización Agroalimentaria de la SAGARPA en conjunto con el subcomité de protección zoonosanitaria, numeral I (Temas a ser iniciados y desarrollados como normas) inciso B (temas reprogramados), en el número 5 (solicitado en el Programa Nacional de Normalización en 2000) correspondiente al Sistema Nacional de identificación individual del ganado, se presenta como objetivo el establecer los procedimientos, actividades, criterios y estrategias para la identificación individual y permanente del ganado; construyendo la rastreabilidad de los animales, mediante la aplicación del dispositivo de identificación oficial con código único, ingreso de los datos del animal en la base de datos oficial, registro de movimientos y demás eventos productivos y sanitarios relevantes en la vida del animal, siendo posible obtener de ello un informe de toda su historia, desde su nacimiento hasta su muerte, así como de los productos y subproductos que se deriven del animal. En el mismo Diario Oficial se menciona que se procederá a la cancelación, en virtud de la generación de los Lineamientos por los que se establecerán los requisitos, operación y especificaciones para la autorización de los establecimientos, previstos por el artículo 105 de la Ley Federal de Sanidad Animal, de las siguientes normas relacionadas con la carne: 008-ZOO-1994 (Especificaciones zoonosanitarias para la construcción y equipamiento de establecimientos para el sacrificio de animales y los dedicados a la industrialización

de productos cárnicos); 009-ZOO-1994 (Proceso sanitario de la carne) y 058-ZOO-1999 (Especificaciones para las instalaciones y operación de los puntos de verificación e inspección zoosanitaria). También se procederá a solicitar la cancelación y la elaboración de un acuerdo, en virtud de que en la Ley Federal de Sanidad Animal es la única que tiene la facultad para publicar disposiciones de Sanidad Animal, de las normas: 030-ZOO-1995 (Especificaciones y procedimientos para la verificación de carne, canales, vísceras y despojos de importación en puntos de verificación zoosanitaria) y 035-ZOO-1996 (Requisitos mínimos para las vacunas, antígenos y reactivos empleados en la prevención y control de la rabia en las especies domésticas). Así mismo se menciona que se procederá a la cancelación, en virtud de la generación de un acuerdo por el que se establecerán las buenas prácticas de manufactura en la elaboración de productos veterinarios con base en la Ley Federal de Sanidad Animal de la Norma Oficial Mexicana Especificaciones técnicas para establecer buenas prácticas de manufactura en la elaboración de productos veterinarios. Por último, cabe citar que, se procederá a solicitar la cancelación, de al menos 11 normas específicas para determinación de antibióticos, plaguicidas, etc. en virtud de que actualmente los parámetros que se deben cumplir para esta determinación quedarán establecidos en la Modificación a la NOM-004-ZOO-1994. En ninguno de los casos se menciona absolutamente nada relacionado con el control de temperaturas en congelación ni el límite de tiempo para el almacenamiento.

El establecimiento de una normativa clara, permitirá evitar fraudes en la venta de carne descongelada en lugar de carne fresca como lo reportan Ballin y Lametsch (2008), donde laboratorios como Appenzell AR and AI, Glaris y Schaffhausen en Suiza en 2002, encontraron que el 15 % de 43 muestras de carne fueron declaradas erróneamente como frescas; en el Reino Unido, el 8 % de 534 muestras fueron también mal clasificadas; además se reveló que durante los últimos años han ocurrido numerosos casos donde se ha vendido y consumido carnes que superan las fechas de expiración en almacenamiento congelado.

Aunque las normas tienen como propósito definir las características de calidad que deben reunirse para la comercialización y para garantizar la carne que llega al consumidor, presentan a nuestro juicio, información no contundente para el control de la misma, ya que existen factores relacionados con la calidad de la carne que no han sido considerados.

Los factores genéticos, (Bonneau y Lebret, 2010); la raza (Bosch y col., 2009), el sexo y la castración (Choi y Kim, 2009); las condiciones ambientales y de alojamiento (Tirado y col., 2010); bienestar animal (Gregory, 2010), la edad y el manejo del mismo (Patra y col., 2009) y los tratamientos veterinarios en casos de enfermedades e infecciones que dejan residuos de antibióticos aplicados, son algunos de los factores a considerar.

La susceptibilidad al estrés durante el transporte (Yu y col., 2009), el manejo y las condiciones de sacrificio (Troy y Kerry, 2010), el proceso de enfriamiento, el deshuese y acondicionamiento, la higiene, el empaque y la maduración, así como las diferentes formas de preparación, el uso de los cortes adecuados y finalmente su forma de conservación, permiten pensar en el establecimiento de normativa enfocada a la conservación de la carne por congelación.

La información anterior, nos permite establecer la necesidad de incidir en la definición de conceptos y criterios que brinden apoyo a la normalización de productos cárnicos congelados ya que a la fecha no se considera un rubro importante.

II.1.6. Cadena del frío y trazabilidad.

La carne fresca es un producto altamente perecedero debido a su composición biológica. Muchos factores relacionados entre sí influyen en la vida de anaquel y la frescura de la carne, tales como la temperatura de conservación, el contacto con el oxígeno del aire, las enzimas endógenas, la luz y humedad, y lo más

importante, los microorganismos que contiene después de la transformación del músculo en carne.

Los principales problemas que afectan a la industria de la congelación están relacionados con el tiempo y la temperatura de almacenamiento y de transporte, aunque no se sabe por qué existe la necesidad de mantener constante la temperatura en toda la cadena alimentaria (Zhou, Xu y Liu, 2010).

Para satisfacer las demandas del mercado, los productores de carne y los reguladores del área de alimentos, aplican sistemas de calidad basados en el análisis de riesgos y a través de la prevención, el control y vigilancia de los parámetros críticos durante todo el ciclo de vida de los productos. Entre los sistemas usados para garantizar la calidad están el análisis de riesgos y puntos críticos (HACCP), buenas prácticas de manufactura (GMP's) y buenas prácticas de higiene (GHP's), entre otras, que están determinadas por las condiciones de temperatura aplicada en la cadena del frío, por lo que las desviaciones a las especificaciones de la misma, deben ser consideradas como un requisito para el control (Nychas y col., 2008).

La inocuidad de la carne y productos cárnicos de alta calidad sensorial, está íntimamente relacionada a la cadena de frío, el cual comienza con el enfriamiento inicial de la canal recién sacrificada y continúa hasta el almacenamiento de la porción fría en el hogar. Se presentan por lo tanto dos niveles diferentes de la aplicación de la refrigeración, en el primero, el objetivo es cambiar la temperatura media de la carne para permitir los cambios bioquímicos propios del material y disminuir la contaminación microbiana. En el segundo, es el mantenimiento de la temperatura en el almacenamiento refrigerado, el transporte y en venta al consumidor. No atender las necesidades de frío en cada etapa del proceso dará como resultado una pérdida de peso excesiva, un aumento en el uso de la energía reduciendo la vida útil del material o deteriorando en la calidad del producto (James y col., 2006).

La cadena de frío es una parte de la cadena de suministro en donde el monitoreo automatizado de la temperatura es fundamental para poder garantizar alimentos seguros. Por lo tanto, a fin de mantener la calidad y reducir los costos, los administradores necesitan garantizar que el sistema de la cadena de frío sea eficaz y que sus componentes esenciales, por ejemplo, congeladores rápidos, almacenes frigoríficos, transporte frigorífico y vitrina refrigerada, etc., estén en buen estado (Chen y Shaw, 2011). A fin de garantizar la calidad del producto, la temperatura requerida debe ser mantenida a lo largo de la cadena desde la producción hasta el consumo (Moureh y col., 2009) que permita la trazabilidad e identificación de los alimentos en cada eslabón de la misma.

Dentro de las ventajas del uso de temperaturas por debajo del punto de congelación se encuentra la prolongación de la vida útil de la carne que reduce los cambios microbianos y químicos (James, 1996). Arrondo y Goñi (1998) han realizado investigaciones relacionadas principalmente con el control y monitoreo de temperaturas con sensores que permiten tomar decisiones con respecto al producto. Nychas y colaboradores (2008), establecen que el deterioro de la carne durante su distribución puede considerarse como un fenómeno ecológico que abarca los cambios de los sustratos disponibles (por ejemplo, compuestos de bajo peso molecular), durante el predominio de una asociación microbiana en particular de los organismos específicos de los desperdicios (specific spoilage organisms, SSO). De hecho, el deterioro de la carne depende de una fracción aún menor de SSO, llamados organismos efímeros de deterioro (ephemeral spoilage organisms ESO). Estos ESO son consecuencia de factores que de forma dinámica persisten desde el procesamiento, transporte y almacenamiento en el mercado. Mientras tanto, el deterioro es un juicio subjetivo por parte del consumidor, que puede verse influido por consideraciones culturales, religiosas y/o económicas, así como por la agudeza sensorial de la persona y la intensidad con la que haya dado el cambio. De hecho, cuando el deterioro avanza, la mayoría de los consumidores detectan la decoloración, fuertes olores, y el desarrollo de baba que constituyen los principales criterios cualitativos para el rechazo de la carne.

En la distribución de alimentos congelados, la cadena de frío comienza en el proveedor de materia prima y continúa hasta el congelador de los consumidores, jugando un papel muy importante en el mantenimiento de calidad y seguridad alimentaria. Por lo tanto, en cada etapa, los requisitos de temperatura deben tenerse en cuenta (Gormley y col., 2002). Por lo general, la temperatura de almacenamiento sugerido es de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, en la que el crecimiento microbiano es cesado por completo, y los cambios enzimáticos y no enzimáticos continúan pero a velocidades mucho más bajas durante la vida útil, aunque la temperatura de $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ está permitida durante períodos cortos en el transporte o en la distribución local. Las vitrinas de venta, deberían estar a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ para tener una buena práctica de almacenamiento y no mayor a $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$. En congeladores domésticos, la temperatura de almacenamiento también es importante, y depende de la velocidad con que se mueve el aire; se recomiendan congeladores de -6 , -12 y $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Cruz, Vieira y Silva, 2009). Se sugiere para la carne congelada una temperatura de $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ como condición ideal de almacenamiento para evitar por completo los cambios de calidad, temperatura a la cual, las reacciones enzimáticas y oxidativas de los ácidos grasos y la recristalización del hielo es probable que sea mínima y por lo tanto se tendrán muy pocos cambios deteriorativos que se produce durante el almacenamiento (Hansen y col., 2004).

La cadena presenta eslabones más débiles, como el tiempo de carga y descarga durante el transporte, que tiene lugar entre las diferentes fases: a la salida del centro de producción o almacenamiento, en la plataforma de distribución y en los puntos de venta. Además, hay que añadir el tiempo transcurrido entre la descarga y su ubicación en el lugar asignado y el tiempo entre que el producto se introduce en el carro de la compra y llega al refrigerador-congelador del consumidor final.

La asociación microbiana de la carne debe ser monitoreados durante el almacenamiento a diferentes temperaturas, así como las condiciones de embalaje, en paralelo con los cambios que ocurren en la producción y/o asimilación de ciertos compuestos que nos permiten evaluar el nivel de deterioro en el que se encuentran (Nychas y col., 2008).

En Reglamento de la Comisión Europea (CE) No. 178/20029, se establecen los principios generales sobre la inocuidad de los alimentos, e incluye aspectos sobre la trazabilidad, equivalencia y la responsabilidad de los operadores, entre otros. La trazabilidad de la carne es un método para identificar animales, carcasas y cortes en todas sus configuraciones de transporte /almacenamiento y envoltorios en cualquier punto de la cadena de abastecimiento. Una propuesta proveniente de la Comisión Europea, el Consejo y Parlamento Europeo, ha adoptado una regulación obligatoria sobre el etiquetado de carnes (EC) 1760/2000 (aquí denominado Regulación de Etiquetado de Carnes). Esta regulación entró en vigencia en enero de 2001 para todos los Estados Miembro de la Unión Europea.

La trazabilidad es definida como " la posibilidad de seguir el movimiento de un alimento especificado en las etapas de producción, transformación y distribución" (Codex Alimentarius, 2004, <http://www.fao.org>), la capacidad de rastrear la historia, la aplicación o la ubicación de que se está examinando o al considerar un producto; la trazabilidad puede estar relacionada con el origen de los materiales y piezas, la historia de procesamiento, la distribución y la ubicación del producto después de la entrega (Organización Internacional de normalización (ISO 9000:2000) <http://www.aenormexico.com>). La Unión Europea en el Reglamento 178/2002 lo describe como " la capacidad de rastrear y seguir un alimentos, piensos, producción de alimentos animales o sustancia destinada a ser, o previstos para ser incorporada en un alimento o un pienso, a través de todas las etapas de producción, transformación y distribución" (Abad y col., 2009).

La etiqueta de la carne debe contener los siguientes elementos obligatorios en formato legible para el ser humano: Un número de referencia o código de referencia que asegura la conexión entre la carne y el animal o grupo de animales; el país de nacimiento; el país y/o países de engorde; el país de matanza; el país y/o países de corte o deshuesado y el número de aprobación del matadero o sector(es) de corte o deshuesado. Cabe resaltar, que la identificación del producto no contiene ninguna información específica sobre el mismo, es sólo un número de identificación que puede ser utilizado como una clave para acceder a la información que está

almacenada dentro de la base de datos de una organización. Sin embargo, cierta información acerca del producto debe ser requerida, por ejemplo, el número de lote del producto, el peso, o “consumir preferentemente antes del” o bien la “fecha de matanza”, “número de etiqueta auricular” y “número de aprobación de matadero” que tendría mucho más relación con la aplicación del frío para la conservación.

II.2. Fundamentos del proceso de congelación.

La congelación es definida sencillamente como una operación unitaria en que la temperatura del alimento se reduce por debajo de su punto de congelación, con lo que una proporción elevada de agua que contiene cambia de estado formando cristales de hielo (Singh y Ross, 2005); Delgado y Sun (2001) dicen que el proceso de congelación combina el efecto favorable de bajas temperaturas con la conversión de agua en hielo. A temperaturas inferiores a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ algunos microorganismos pueden desarrollarse, pero se reduce la velocidad de reacción química y también se retrasan las reacciones metabólicas celulares.

Kiani y Sun (2011) la definen como el método más popular y eficiente de preservación de alimentos y se lleva a cabo en tres pasos: el enfriamiento del producto hasta su punto inicial de congelación (preenfriamiento); la remoción del calor latente de cristalización (etapa de transición de fase) y el enfriamiento final hasta la temperatura de almacenamiento; la transición de fase es la parte del proceso que involucra la conversión del agua líquida a hielo a través del proceso de cristalización. La transición del agua al hielo tiene la ventaja de fijar la estructura de tejido y separar la fracción de agua en forma de cristales de hielo de manera que no está disponible como componente de disolvente o reactivo. (Delgado y Sun, 2001).

La congelación de alimentos es más compleja que la del agua, como se puede visualizar en la Figura 2.7.

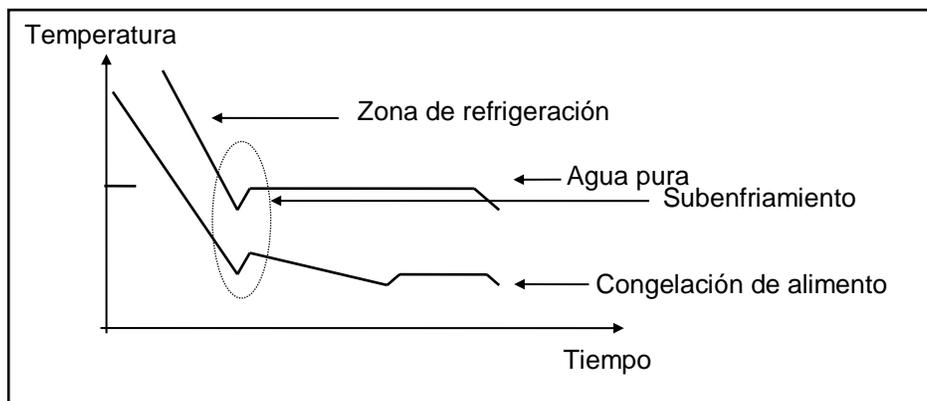


Figura 2.7. Curva característica de congelación del agua y alimento.

Sin embargo, la congelación requiere ser analizada desde varios puntos de vista: el punto de vista termodinámico, que considera dos etapas importantes: la nucleación y el crecimiento de cristales, etapas que determinan las características de los cristales como es su tamaño distribución y morfología (Kiani y Sun, 2011); y la transferencia de calor y masa que rigen este proceso y que están relacionados con la velocidad de remoción de calor, el tiempo de proceso y las mismas características de los cristales formados.

II.2.1. Métodos de congelación.

Existen diferentes métodos de congelación que dan como resultado diferentes velocidades y que en forma general se clasifican en:

Sistemas de contacto indirecto.

En numerosos sistemas de congelación de alimentos, el producto y el refrigerante están separados por una barrera durante todo el proceso, por ejemplo aquellos donde el material del envase hace de barrera.

a) Congeladores de placas: El producto se congela mientras se mantiene entre dos placas refrigeradas. En la mayoría de los casos la barrera entre el producto y el refrigerante incluirá tanto a la placa como el material del envase.

Los sistemas de congelación de placas pueden operar tanto de modo discontinuo como de modo continuo.

b) Congeladores por corriente de aire: En estos casos, el envase supone la barrera para la congelación indirecta siendo la fuente del enfriamiento una corriente de aire frío.

En una operación discontinua, la habitación refrigerada puede actuar como almacén además de como un compartimento de congelación. En esta situación los tiempos de congelación serán altos debido a las bajas velocidades del aire alrededor del producto, la imposibilidad de alcanzar un buen contacto entre el producto y el aire frío y los menores gradientes de temperatura existentes entre el producto y el aire, también modifican los tiempos de proceso.

Sin embargo, la mayoría de los congeladores por corriente de aire son continuos. En estos sistemas, el producto se coloca sobre una cinta transportadora que se mueve a través de una corriente de aire que circula a elevada velocidad. El tiempo de congelación o de residencia viene determinado por la longitud y velocidad de la cinta transportadora. Estos tiempos pueden ser relativamente pequeños si se utiliza aire a muy baja temperatura, altas velocidades y si un existe un buen contacto entre el producto y el aire frío.

Sistemas de contacto directo.

Existen varios sistemas de congelación que operan por medio del contacto directo entre el refrigerante y el producto. En la mayoría de las ocasiones, estos sistemas operarán más eficazmente si no existen barreras a la transmisión de calor. Los refrigerantes que se utilizan en estos sistemas pueden ser aire a baja temperatura y altas velocidades o líquidos refrigerantes que cambian de fase en contacto con la superficie del producto. En cualquier caso, los sistemas se diseñan para alcanzar una rápida congelación, aplicándose el término de congelación rápida individual (en inglés, individual quick freezing), IQF.

a) Corriente de aire: una forma de IQF, es cuando el producto es de tamaño pequeño y consiste en la utilización de corrientes de aire a bajas temperaturas y altas velocidades que entran en contacto directo con el producto. La combinación de aire a bajas temperaturas, elevados coeficientes de transmisión de calor por convección y el pequeño tamaño del producto permiten la rápida congelación del mismo.

b) Inmersión: La superficie exterior del producto puede alcanzar temperaturas muy bajas sumergiendo el alimento dentro de un refrigerante líquido. Si el tamaño del producto es relativamente pequeño, el proceso de congelación se alcanza rápidamente en condiciones IQF. Para algunos alimentos, con este sistema se consiguen menores tiempos de congelación que cuando se utilizan corrientes de aire o sistemas de lecho fluidizado.

El proceso consiste en introducir el producto en un baño de líquido refrigerante. Mientras que el líquido refrigerante se evapora, se absorbe el calor del producto. Los refrigerantes más comunes son el nitrógeno, el dióxido de carbono y el freón. Una de las mayores desventajas de los sistemas de congelación por inmersión es el costo del refrigerante, ya que éste pasa del estado líquido a vapor mientras se produce la congelación del producto, resultando difícil recuperar los vapores que se escapan del compartimento

II.2.2. Transferencia de calor y masa durante la congelación.

La formación de los cristales de hielo no es un proceso espontáneo posterior a la nucleación, hay un avance progresivo del frente de hielo a la vez que una difusión de solutos hacia zonas con movimiento molecular reducido pero aún en estado fluido, lo que involucra la presencia de transporte de materia.

Olguí y colaboradores (2008) Reiteran que existe una transferencia de calor y masa en el cambio de fase, pero que la modelización de estos procesos simultáneos es muy complicada, sin embargo trabajan con un modelo que toma en cuenta las características del material y las variables de proceso relacionadas con el

avance del frente de congelación o de hielo como es la sublimación del agua, los perfiles de temperatura y la pérdida de peso, así mismo consideran un material semiinfinito con características similares a un gel muy diluido (cuyas propiedades pueden suponer iguales a los del agua pura). Presentan un diagrama en donde existe una región no congelada, una congelada y una deshidratada que se muestra en la Figura 2.8.

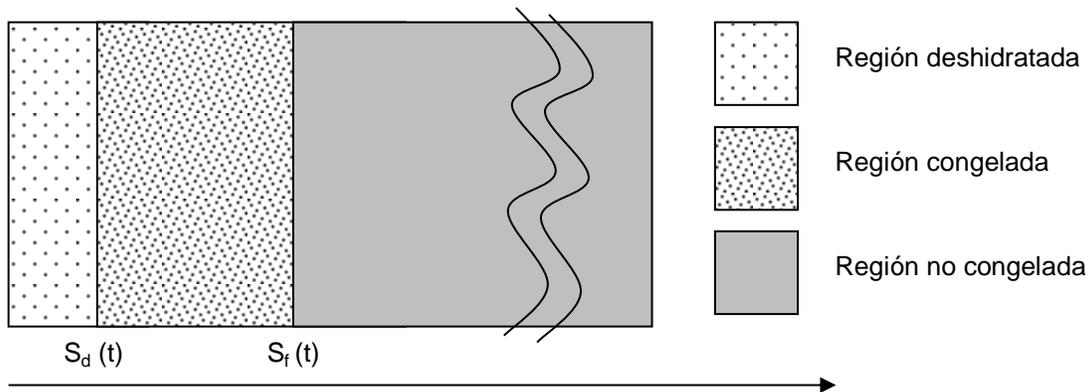


Figura 2. 8. Esquematización de transferencia másica y térmica en congelación.

En el modelo se considera que las variables (Def , C_p , k , q) están en función de la composición, temperatura y estructura, con tres zonas diferenciadas: la zona no congelada, la congelada y la deshidratada. La posible diferencia entre las densidades de las fases líquida y congelada induce a un cambio insignificante en el volumen. La difusión de vapor en la zona de deshidratada debe considerarse a través de un coeficiente de difusión efectivo adecuado (Def), parámetro importante y muy difícil de medir o calcular, así como la isoterma de adsorción de agua sobre el material a temperaturas bajo cero.

Signe K. R. y Ola F. (1995), establecen una ecuación en donde al relacionar a la transferencia másica y térmica (en función a la difusión molecular, densidad, tanto de la solución como del agua a una misma temperatura, la concentración hielo-líquido en interfase y la fracción de agua congelable, así como la conductividad

térmica y parámetros cinéticos) confirmando nuevamente que el crecimiento depende fundamentalmente de los gradientes de temperatura y de la dirección de la remoción de calor, estudio aplicado en una película plana donde se controla la difusión del agua, para que se dé una crioconcentración termodinámicamente irreversible.

La velocidad de formación de los cristales de hielo es:

$$\begin{aligned} \vartheta_H - |\vartheta_{H_2O}| + \Delta\vartheta_H &= |\vartheta_{H_2O}^{par}| + \vartheta_{H_2O}^{par} * C_{H_2O}(\vartheta_H - \vartheta_{H_2O}) \\ &= \vartheta_{H_2O}^{par} (1 + C_{H_2O}(\vartheta_H - \vartheta_{H_2O})) \end{aligned} \quad (1)$$

Donde:

C= concentración

ϑ = volumen parcial molar

$$\begin{aligned} j_D &= \vartheta_{H_2O}^{soluto} = \vartheta_{H_2O}^{hielo} \\ \vartheta_{H_2O} &= \frac{dx}{dt} \\ \vartheta_H &= \frac{1}{C_{H_2O}} \left(1 + \frac{1}{C_{H_2O}(V_H - V_{H_2O})} \right) \text{Ln} \left(\frac{\Delta_f H}{T} \frac{dT}{dx} - \frac{RT}{C_{H_2O}} \frac{dC_s}{dx} \right) \end{aligned} \quad (2)$$

El punto inicial de congelación en la solución se establece como:

$$\begin{aligned} dT_{cp} &= \left(\frac{T_{cp}^2}{\Delta_f H} \right) d\ln(a_w) \\ d\ln(a_w) &= -\frac{dC_s}{C_{H_2O}} \end{aligned} \quad (3)$$

Sin embargo, si se hace la suposición de que la difusión de moléculas a la superficie del cristal es el factor limitante en la velocidad, se puede decir que la velocidad con la que la masa se deposita sobre la superficie del cristal está dada por:

$$\frac{dM}{dT} = \frac{DA}{\delta} (C' - C_s) = k_{mA}(C - C') \quad (4)$$

Donde:

δ = espesor de la capa hidrodinámica cerca de la superficie del cristal

D = coeficiente de difusión [cm²/min]

k_M = Coeficiente de transferencia de masa

A = área

C' = concentración de soluto en la interfase

C_s = concentración del soluto en la saturación

C = Concentración de soluto en la masa de la solución

$$\frac{dM}{dT} = \frac{A(C - C_s)}{\frac{1}{k_m} + \frac{\delta}{D}} \quad (5)$$

Como el soluto debe difundir alejándose de la superficie del cristal a medida que las moléculas de agua difunden hacia la superficie, se tiene:

$$W_a = \frac{-D}{1 - X} \frac{dX}{dx} \quad (6)$$

Donde:

W_a = flujo de soluto

X = fracción molar de soluto

X = eje X

Se pueden desarrollar expresiones empíricas usando grupos adimensionales:

$$\frac{F_d d_e}{D} = K \left(\frac{d_e v \rho}{\mu} \right)^{0.6} \left(\frac{\mu}{M_m D} \right)^{0.3} \quad (7)$$

$$W_A = F_d \int_{x_\infty}^{x_i} \frac{dX}{1-X} = F_d \ln \left[\frac{1-x_i}{1-x_\infty} \right] \quad (8)$$

Donde:

x_∞ = fracción molar en el seno de la solución

x_i = fracción molar inicial en el seno de la solución

k = conductividad térmica

F_d = coeficiente de transferencia de masa.

d_e = diámetro efectivo del cristal [AIO]

u = velocidad del líquido sobre el cristal (pies/s)

ρ = densidad

μ = viscosidad

M_m = peso molecular promedio de la mezcla soluto-solvente

Cualquier crecimiento de cristal implica una reacción en la superficie del cristal, que está expresada por la siguiente ecuación:

$$W_a = F_R (x_i - x_s)^n \quad (9)$$

Donde:

F_R = Constante de velocidad de reacción

X_s = Fracción molar en la superficie

X_i = Fracción molar en la interfase

n = Número de cristales

Combinando ecuaciones se puede plantear el coeficiente total de transferencia de masa como:

$$\frac{1}{F_0} = \frac{1}{F_d} + \frac{n \left(\frac{1-x_s}{1-x_i} \right)}{F_R(x_i - x_s)^n} \quad (10)$$

F_0 = coeficiente global de transferencia de masa

Pham (1987, 1996 y 2006), Campañone, Salvatori y Mascheroni (2001) han publicado en forma más extensa la interrelación que existe entre la transferencia térmica y másica en la congelación de alimentos y principalmente en la formación y tamaño final de cristales de hielo, así como el punto inicial de congelación, sin embargo existen parámetros que no son fácilmente medibles en sistemas complejos.

Algunos otros autores como Gill, y colaboradores (1988), Lucas, Flik y Raoult-Wack (1996), han publicado la interrelación que existe entre la transferencia térmica y másica en la congelación de alimentos y en la formación de cristales, cabe aclarar, que en esta revisión se considera importante también el tamaño del cristal formado, así como el punto inicial de congelación.

II.2.3. Función del agua en la congelación, morfología y propiedades mecánicas de los cristales de hielo.

En los alimentos no aparece el agua nunca en estado puro, sino en forma de soluciones; una parte del agua se halla firmemente ligada en las estructuras proteicas y polisacáridos. Estos hechos influyen esencialmente sobre las propiedades físicas del agua y también sobre el propio proceso de congelación. El agua forma con estos componentes una solución con dispersión de las moléculas,

lo que motiva la modificación de las características físicas, como la disminución de la temperatura de congelación. Las moléculas de la sustancia soluble se oponen al movimiento de las moléculas de agua, anulan este movimiento y con ello reducen la velocidad de difusión. Por razones semejantes se reduce también la velocidad de cristalización de las soluciones; pero no solo la presencia de sustancias extrañas en la solución influye sobre las propiedades de ésta. Es importante también como estén unidas las sustancias a las moléculas de agua. La forma de esta unión puede ser muy variable. Una parte del agua que está sólidamente unida a las sustancias proteicas no se congela nunca, ni siquiera con temperaturas muy bajas, circunstancia que influye sobre las propiedades físicas de la solución congelada y provoca también el descenso de la entalpía específica de solidificación.

Van der Sman y colaboradores (2005) mencionan que el agua ligada es el agua de hidratación de biopolímeros solubles como son las proteínas y los carbohidratos. No se puede hablar realmente de agua de hidratación ya que existe un intercambio de moléculas de agua 'ligada' y el agua "libre". Lo que hace al agua 'ligada' especial con respecto a la congelación es que tiene una estructura cristalina que no está disponible para disolver solutos (Wolfe, Bryant y Koster, 2002).

La actividad de agua (A_w) se relaciona solamente con la fracción molar del agua libre, sin embargo, existe el error de considerar al agua ligada con el agua no congelable, esta se puede formar si un alimento llega la transición vítrea. De acuerdo con Fennema (2010), los productos cárnicos tienen una alta temperatura de transición vítrea en el intervalo de -14 a -20 °C y que se recomienda sea medido por RMN o por DSC y de la cual se habla a profundidad posteriormente.

Se ha asumido que la cantidad de agua ligada tiene una dependencia lineal a la fracción de masa de biopolímeros solubles, y la fracción másica de agua ligada.

El punto inicial de congelación (T_f) de una solución está directamente relacionado con la A_w como se indica en la relación de Clausius– Clapeyron:

$$\ln(A_w) = \left[\frac{1}{T_f} - \frac{1}{T_{f0}} \right] \lambda / R \quad (11)$$

R = constante de gases ideales

λ = calor latente de fusión

T_{f0} = punto inicial de congelación del agua pura.

Para soluciones ideales A_w sigue la ley de Raoult donde se tiene que considerar el efecto del agua ligada, por lo que la A_w es igual a la fracción molar del agua libre x_{wf} .

$$A_w = x_{wf} = \frac{(y_w - y_b)}{\left[(y_w - y_b) + M_w \sum \eta_s y_s / M_s \right]} \quad (12)$$

Donde:

y_w =fracción de masa de agua

y_b = fracción de masa de agua ligada

M_w = peso molecular de agua

El índice “s” indica solutos, y_s es la fracción de masa de solutos, M_s es el peso molar (efectivo) del soluto y η_s es el número de disociación de sales.

La A_w se define como la relación entre la presión de vapor del agua del alimento (p) y la del agua pura (p_0) a la misma temperatura sin embargo sólo proporciona información sobre la cantidad de agua fuertemente ligada y libre y solo indica su reactividad. El cambio de A_w con la temperatura es relativamente bajo, mientras que en la mayoría de los casos las velocidades de reacción se ven significativamente afectadas por la temperatura y cambios físicos, tales como la cristalización, no pueden ser explicados basándose solamente en ella, (Rahman,

2010). En el diagrama presentado en la Figura 2.9., se observan puntos importantes relacionados con la congelación.

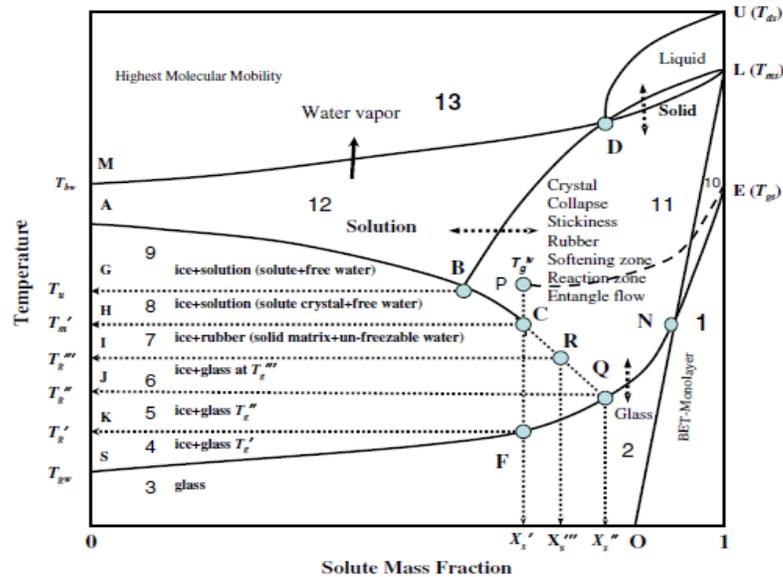


Figura 2.9. Diagrama de estado donde se muestran los diferentes estados de los alimentos. (Rahman, 2010).

La línea de congelación se representa en los puntos (ABC), el punto F (X_s' y T_g') menor que T_m' (punto C) es característico de una transición (a condiciones de máxima concentración en congelación). El contenido de agua en el punto C, es considerado como agua no congelable ($1-X_s'$), aun a temperaturas muy bajas, incluye tanto el agua libre no congelada como al agua ligada dentro de la matriz. El punto Q, a condiciones de T_g'' y X_s'' , es la intersección entre la curva de congelación y la de transición vítrea.

En la línea RAG, las fases presentes son hielo y solución. En AGB, las fases presentes con correspondientes a hielo en solución. En el punto B, contiene los tres estados del agua: hielo, solución y cristales de soluto, a la derecha del punto C no hay agua libre (T_m' , punto final de congelación a condición de la máxima de concentración) y, a continuación, la solución muy concentrada se transforma a una estructura gomosa.

En el hielo, como en la mayoría de los sólidos, las moléculas se acomodan en una formación ordenada, sin embargo, dependiendo de las condiciones de presión y temperatura, es posible que adopten diferentes formas. Se han identificado 16 formas de hielo, incluyendo dos formas de hielo I, nombradas por orden de descubrimiento.

En un diagrama de fases de la Figura 2.10. se representan qué estructuras son estables termodinámicamente en unas determinadas condiciones de presión y temperatura.

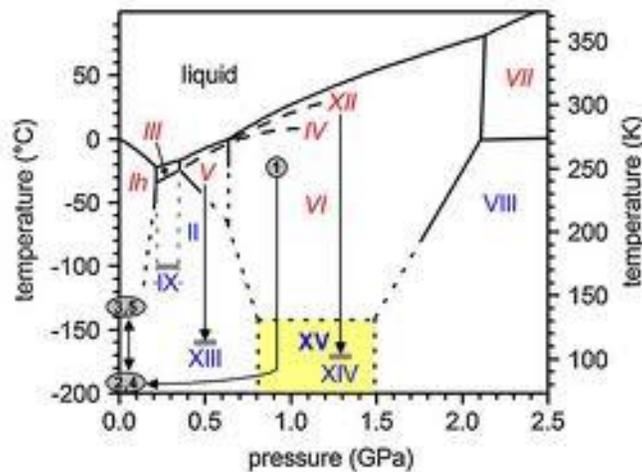


Figura 2.10. Diagrama de fases del agua.

La fase I presenta dos variantes relacionadas entre sí: el hielo hexagonal, **Ih**, fase más común, y la mejor conocida, y el hielo cúbico, **Ic** que se obtiene por deposición de vapor de agua a temperaturas inferiores a $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$; a $-38\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 200 MPa de presión, ambas estructuras están en equilibrio termodinámico.

En hielo **Ih** cada átomo de oxígeno de una molécula de agua tiene otros cuatro átomos de oxígeno como sus vecinos más próximos, situados en los vértices de un tetraedro regular cuyo centro es el átomo de oxígeno de interés. Esta unidad tetraédrica es común a todas las demás fases del hielo, y se debe al hecho de que el ángulo entre átomos de hidrógeno en la molécula de agua libre H-O-H es de 104.52° , en vez de 90° . El ángulo tetraédrico entre O-O-O es de 109.47° , la distancia

entre átomos de oxígeno O-O es de 0.276nm y entre O-H de 0.0985nm. La unión entre átomos intramoleculares es de enlaces covalentes simples y por tanto muy estables, mientras que la unión intermolecular se produce por enlaces de puente hidrógeno relativamente débiles, lo cual explica la relativamente baja temperatura de fusión del hielo.

Los parámetros de red más relevantes son el lado hexagonal $a=0.451\text{nm}$, y la altura del prisma hexagonal $c=0.7357\text{nm}$. Estos valores pueden variar ligeramente con la temperatura, pero la relación entre ambos, permanece prácticamente estable y muy cercano al valor óptimo de $c/a=1.633$, teorizado para esferas sólidas en contacto formando la misma estructura hexagonal. Por su parte, el hecho de que el hielo Ih tenga una estructura hexagonal explica la anisotropía usualmente observada en sus propiedades mecánicas: el módulo de Young, por ejemplo, que se sitúa en el entorno de $E=9^{10}$ GPa para cristales puros, presenta isotropía radial, y varía considerablemente según la dirección de la deformación; la resistencia mecánica, situada en el entorno de 1MPa para cristales puros en la dirección basal, puede alcanzar los 7MPa en ciertas configuraciones.

El resto de fases cristalinas se producen a presiones mucho más altas, como el hielo II con estructura romboidal, que se forma a unos 238 K para presiones de 283 atmósferas con densidad de 1193 kg/m^3 por ser una estructura mucho más compacta.

El hielo puede aparecer en dos fases amorfas (vítreas): el hielo amorfo de baja densidad (940 kg/m^3) a $-196\text{ }^\circ\text{C}$ y 1atm y el hielo amorfo de alta densidad (1170 kg/m^3), a las mismas condiciones. La formación del hielo amorfo es complicada, y se relaciona con el tiempo de solidificación, puede formarse por condensación de vapor por debajo de $-160\text{ }^\circ\text{C}$ o por colapso de la estructura Ih bajo elevada presión por debajo de $-196\text{ }^\circ\text{C}$.

Todas estas formas de hielo tienen estructuras más compactas o presentan modificaciones alotrópicas, como las que se muestran en la Figura 2.11.

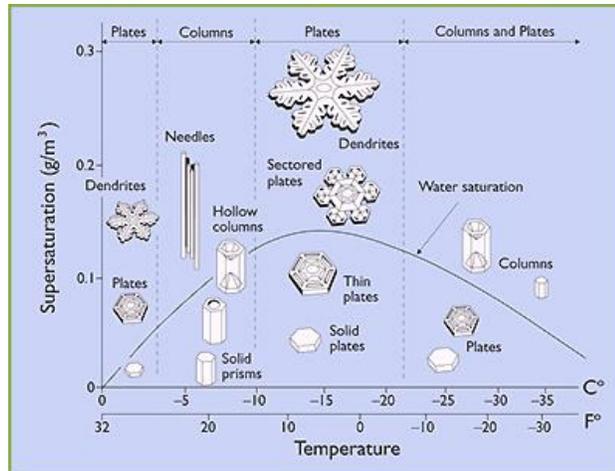


Figura 2.11. Distintas formas del hielo en función a la temperatura.

Menegalli y Calvelo (1979), establecen que la morfología adoptada por hielo en tejidos congelados es aceptada como uno de los factores responsables de daños de congelación; habiendo sucedido una nucleación homogénea y uniforme y un crecimiento con un tamaño específico del cristal, aunaron la posibilidad de una congelación intra y/o extracelular con crecimiento de cristales dendríticos.

Qu, Komori y Jian (2001) clasifican a los cristales producidos a nivel laboratorio de acuerdo a la temperatura de formación, los cuales tiene una marcada similitud con los cristales de nieve natural, mostrando que es posible simular muy bien las primeras etapas de crecimiento de cristales de nieve. En el Cuadro 2.2. se presentan las condiciones de temperatura.

El crecimiento dendrítico implica una inestabilidad en la interfase sólido-líquido en la fusión y requiere ciertas condiciones para que se lleve a cabo. Por ejemplo, en sistemas puros, donde el calor de cristalización se disipa a través del sólido, la interfase es estable y el crecimiento es uniforme en todo el frente. Si, por el contrario, el sistema es tal, que antes de la fusión del cristal en la interfase aumenta el subenfriamiento (Figura 2.12.), se observa una leve protuberancia en el frente de crecimiento, con un pequeño avance en una parte en relación con el resto, llegando a una región de subenfriamiento.

Cuadro 2. 2. Variación de estructuras cristalinas en función a la temperatura.

Intervalo de temperatura (K)	Forma del cristal de hielo
273 ± 270	placas hexagonales delgadas
270 ± 268	agujas
268 ± 265	prismas huecos
265 ± 261	placas hexagonales
261 ± 257	cristales dendríticos
257 ± 248	placas
248 ± 223	prismas huecos

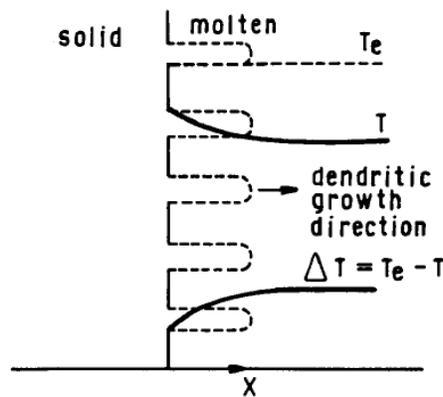


Figura 2.12. Distribución de temperaturas para crecimiento dendrítico.

Este incremento en la velocidad, crea una inestabilidad en el crecimiento de la interfase y propicia la formación de ramificaciones (dendritas) cuyo crecimiento es controlado por el calor de cristalización que generan. La dirección del crecimiento es simétrico cuando el proceso es lento, pero cuando el proceso es muy rápido y la dirección del crecimiento es dendrítico y está regulado por la distribución espacial de temperatura (Menegalli y Calvelo 1979).

Durante la congelación de materiales biológicos existe un agrietamiento del material o una ruptura de la pared celular que propicia daños texturales, y modificaciones en la forma y el tamaño, por lo que McKellar, Paterson y Pham

(2009) han propuesto dos modelos para explicar lo que sucede y no atribuirlo a un crecimiento dendrítico del cristal en el interior del material congelado. El modelo de estrés isotrópico (IS) o "squeezing", donde se forma un escudo de agua congelada que empuja a la no congelada hacia el interior del material, comprimiendo la parte central y el modelo de expansión isotrópica (IE) o "ballooning" donde la coraza congelada se expande hacia afuera y causa tensión de tracción en el centro.

En la capa congelada ($r > r_f$), se asume una relación lineal elástica estrés-tensión, es decir, el estrés es proporcional a la tensión. Desde la tensión total en cada dirección, ε_r y ε_t , respectivamente, es la suma de tensión térmica (derivados de cambio de fase o de la dilatación o contracción) y tensión mecánica (derivados de estrés), el primero debe deducirse de la tensión total para obtener la relación elástica estrés-tensión. Donde la ley elástica lineal se convierte en:

$$\varepsilon_r - \varepsilon_r^0 = \frac{1}{E_f} (\sigma_r - 2\nu\sigma_t) \quad (13)$$

$$\varepsilon_t - \varepsilon_t^0 = \frac{1}{E_f} [\sigma_t - \nu(\sigma_r + \sigma_t)] \quad (14)$$

Donde:

ε = tensión total

ε_t^0 = tensión lineal en el cambio de fase

E = módulo de Young en el punto inicial de congelación del material congelado (Pa)

σ_t = estrés tangencial (Pa)

σ_r = estrés radial (Pa)

ν = relación de Poisson

En modelo de estrés isotrópico (IS), la expansión tangencial está restringida por la geometría y toda la expansión en el cambio de fase es en dirección radial. Dado que el líquido a punto de ser congelado es libre de estrés de distorsión

(deviatoric stress-condition, en la que los componentes de estrés que operan en un punto en un cuerpo no son los mismos en cada dirección, también conocido como estrés diferencial), y que no debería haber estrés en hielo recién formado.

Los cambios en la textura disminuyen potencialmente la calidad de la carne, dichos cambios se deben al fenómeno de recristalización progresiva, la cual le confiere a la carne un aspecto vítreo. Los cambios de textura pueden evitarse empleando métodos de congelación rápida (Bertram y col., 2007; Do y col., 2004 y Swayer y col., 2007). Las pérdidas de agua en carne congelada se deben al cambio de fase que sufren los cristales de hielo que se generan en la periferia del producto, cuando el hielo se sublima, se genera un fenómeno de deshidratación superficial e irreversible que a su vez favorece una serie de reacciones oxidativas. Esta pérdida prevalece, cuanto mayor sea la temperatura de almacenamiento, ya que en la superficie del producto la presión parcial del vapor de agua aumenta con la temperatura (Sakata y col., 1995).

II.3. Termodinámica de la congelación.

La congelación no puede ser tratada solamente desde el punto de vista tecnológico o de sus repercusiones sobre un producto, se debe contemplar el cambio de fase como una disminución de la temperatura en función al tiempo, debe considerar que cambio de propiedades termofísicas durante el proceso, conlleva al cambio de estado del agua. Aunque existen varias etapas durante la congelación de un alimento, las más importantes son: la nucleación y el crecimiento de cristales, que involucran cambios en la energía libre y la entropía, entre otras variables termodinámicas.

Se espera que un material solidifique cuando se enfría el líquido abajo de su temperatura de solidificación, cuando esto ocurre, la energía asociada con la estructura cristalina del sólido es progresivamente menor que la energía del líquido, haciendo cada vez más estable al sólido conforme la temperatura se hace menor, disminuyendo la entropía del sistema (Morgan K., Lewis R. W. & Zienkiewicz 1978).

La energía libre volumétrica es debida al cambio de estructura, ya que no ocupará el mismo volumen al pasar del estado líquido al sólido, de forma que se requiere energía adicional para permitir que los cristales se acomoden. De la misma forma, en la nucleación se requerirá de menor cantidad de energía superficial cuando ya existan embriones en la estructura, permitiendo la formación de nuevos núcleos o facilitando la solidificación, por lo tanto la relación entre el crecimiento y la nucleación desempeña una función importante en la transformación de fases.

II.3.1 Nucleación.

La nucleación sucede cuando una pequeña partícula sólida se forma dentro del líquido. Técnicamente es la generación de una fase metaestable de las partículas más pequeñas en una fase estable y que es capaz de crecer espontáneamente. En el caso del agua pura, comienza la formación de núcleos homogéneos en un intervalo de temperatura de 0 a -10 °C, pero a -40 °C, se lleva a cabo la nucleación heterogénea (Chen, 1987). El agua destilada, en ausencia de un agente de nucleación, se sobreenfría a aproximadamente -15 °C y se mantiene a esta temperatura durante varias horas. Cuando se congela el agua, forma una masa de hielo (o película superficial) acompañada por un aumento de temperatura alrededor de 0 °C, dando como resultado un aumento en el volumen total. (Chatterji, 1999)

La nucleación representa una transformación de un líquido no cristalino a un sólido cristalino, por lo que si un líquido es enfriado por debajo de su punto de cristalización de equilibrio T_C , el sistema puede bajar su energía libre para formar una fase sólida. Este cambio de energía es la fuerza motriz para la solidificación, como se muestra en la Figura 2.13.

El cambio en la energía libre para la solidificación es:

$$\Delta G_V = G_S - G_L \quad \text{ó} \quad \Delta G_V = \Delta H_V - T\Delta S_S \quad (15)$$

Donde ΔH_V y ΔS_V son los cambios de entalpía y entropía, respectivamente. Como existen variaciones de volumen entre el agua y el hielo, se establece que:

$$V_w = \frac{4}{3}\pi r^3 \quad V_{ice} = 4\pi r^2 dr \quad (16)$$

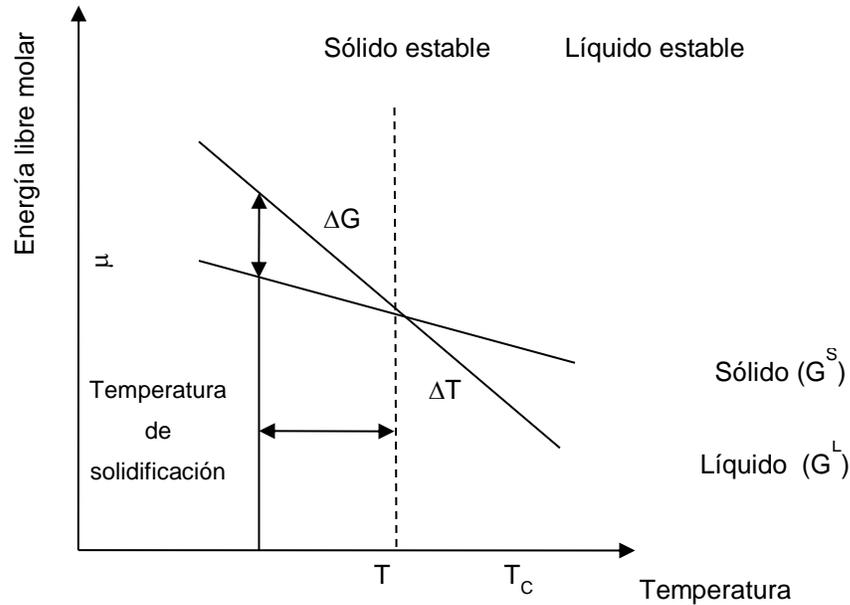


Figura 2.13. Energía libre molar en función a la temperatura. (Adaptado de Rousseau, 1998).

Por lo que el cambio en el volumen está dado por:

$$V_w = 0.09V_{ice} = 0.36\pi r^2 dr \quad (17)$$

En la temperatura de equilibrio, T_c , la fuerza motriz para la transformación es $\Delta G_V = 0$. Así:

$$\Delta H_V - T_c \Delta S_V = 0 \quad (18)$$

Despejando ΔS_V y sabiendo que $T_m - T = \Delta T$, la expresión queda:

$$\Delta G_V = \frac{\Delta H_V \Delta T}{T_c} \quad (19)$$

Si la temperatura cae por debajo de T_c , el tamaño del embrión aumenta.

En la Figura 2.14. se muestran el comportamiento de la energía libre como una función del radio (r) y de los términos que la componen, la energía de la interfase y la energía libre de volumen.

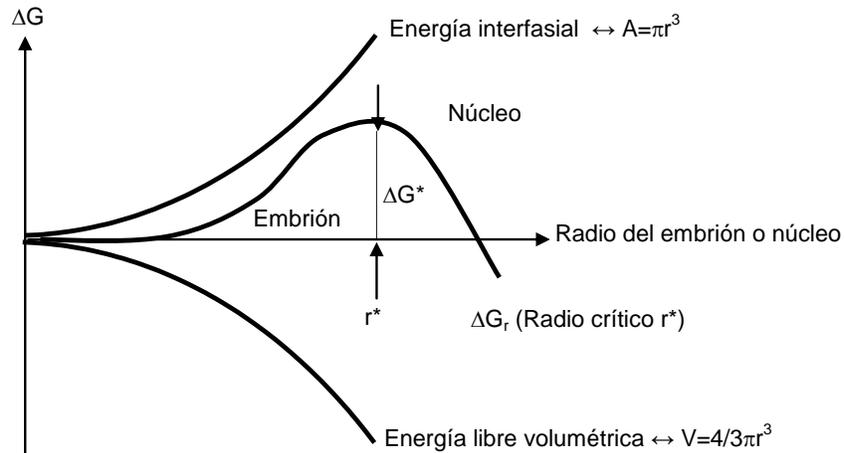


Figura 2.14. Cambio de energía libre. (Adaptado de Rousseau, 1998).

El embrión comienza en forma de casquete esférico que por lo regular, se forma en la superficie fría. El ángulo de contacto, θ , describe cómo el embrión está situado en el sustrato y la eficacia del sitio de nucleación. Por tanto ΔG es afectado por θ . Un ángulo bajo resulta en una buena adhesión entre el embrión y el sustrato. Este comportamiento se esquematiza en la Figura 2.15.

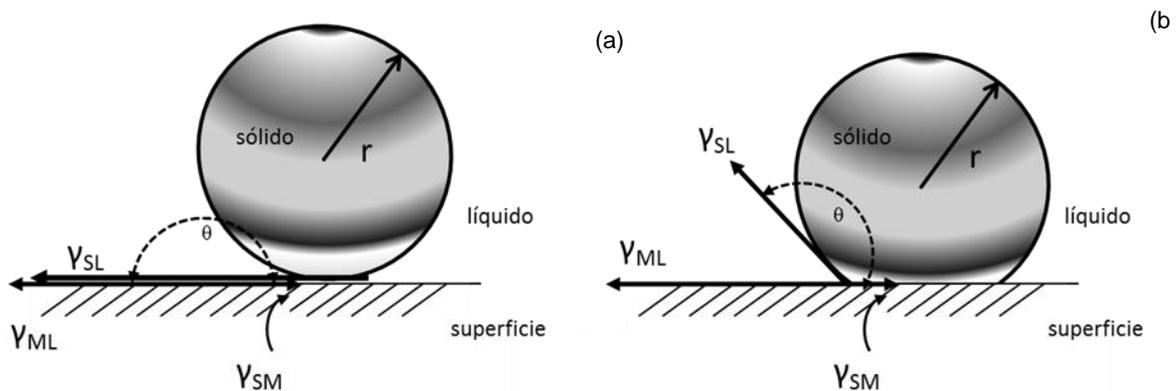


Figura 2.15. Efecto del ángulo para formación de embriones. (Fern, 2008 y Toledano, 2009).

Por lo tanto, la expresión para la energía libre queda como:

$$\Delta G = \left(\frac{4}{3}\right)\pi r^3 \Delta G_V + 4\pi r^2 \gamma_{S-L} \quad (20)$$

Donde γ_{S-L} = ángulo de contacto con superficie fría.

Cuando $r=r^*$, la curva de ΔG muestra un máximo, ΔG^* . A estas constantes se les conoce como críticas y representan el tamaño mínimo requerido por el embrión para subsistir (y crecer) y la barrera energética que tiene que vencer para hacerlo, respectivamente. La relación entre r^* y ΔG^* con ΔG_V se obtiene:

$$r^* = -2\gamma_{S-L}/\Delta G_V \quad (21)$$

Sustituyendo el valor en (9):

$$\Delta G = 16\pi r^2 \gamma_{S-L}^3 / 3\Delta G_V^2 \quad (22)$$

Desde el punto de vista del sobre enfriamiento (ΔT):

- cuando $\Delta T = 0$, r^* y ΔG^* son demasiado grandes, no hay nucleación.
- a ΔT bajos, ΔG es bajo y se detiene la nucleación.
- si ΔT es muy grande, r^* y ΔG^* son pequeñas y la nucleación procede.

La nucleación heterogénea es debida a las "impurezas" y se obtiene un radio de curvatura mayor que el radio crítico (r^*), con muy poca superficie entre el sólido y el líquido. Se necesitan solo unos cuantos átomos para producir una partícula sólida con el radio requerido y, en consecuencia se necesita menor sub enfriamiento para lograr el tamaño crítico.

Para la nucleación heterogénea, el cálculo de ΔG debe considerar los siguientes términos (Figura 2.16.):

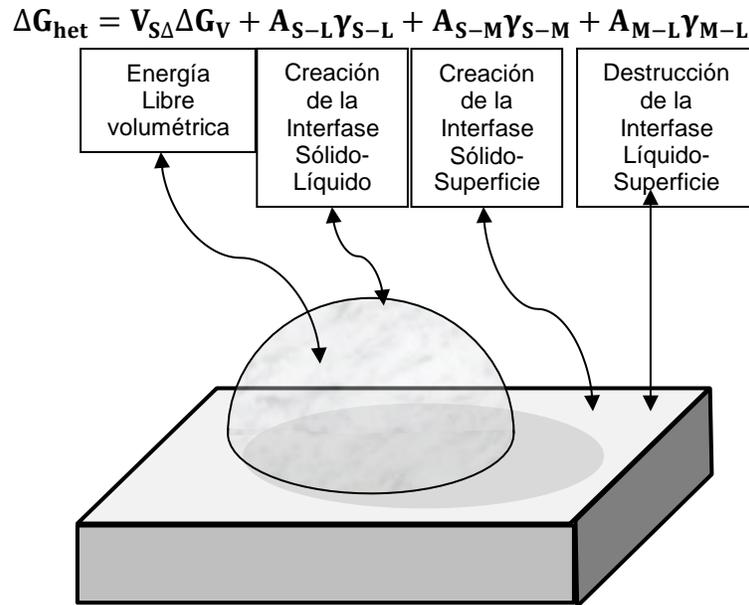


Figura 2.16. Términos que considera la nucleación heterogénea.

Al establecerse un equilibrio entre las fuerzas de tensión superficial que actúan sobre el sólido y realizando un balance entre estas fuerzas sobre la superficie fría tenemos que:

$$\gamma_{M-L} = \gamma_{S-M} + \gamma_{S-L} \cos\theta \quad \text{o bien}$$

$$-\gamma_{S-L} \cos\theta = \gamma_{S-M} - \gamma_{M-L} \quad (23)$$

Considerando al núcleo como un casquete esférico y sustituyendo y re arreglando términos se tiene:

$$\Delta G_{\text{het}} = \left(\frac{1}{3}\right) \pi r^3 ((2 + \cos\theta)(1 - \cos\theta)^2) \Delta G_V + (2\pi r^2 (1 - \cos\theta)) - (\pi r^2 \sin^2\theta \cos\theta) \gamma_{S-L} \quad (24)$$

$$\Delta G_{\text{het}} = \Delta G_{\text{hom}} S(\theta) \quad (25)$$

Donde:

$$S(\theta) = \left(\frac{1}{4}\right)(2 + \cos\theta)(1 - \cos\theta)^2 \quad (26)$$

El radio crítico es el mismo para ambos tipos de nucleación, pero la barrera energética para la heterogénea es menor. Sólo será igual en el caso de que $\theta = 180^\circ$.

Kiani y Sun 2011, definen la etapa de nucleación como la formación de nuevos cristales que sucede en una solución libre de cristales, llamada nucleación inicial o primaria y en la presencia de cristales ya formados, denominada nucleación secundaria; la primaria puede ser homogénea si la solución contiene partículas sólidas y/o heterogénea si hay partículas extrañas. Sin embargo, el crecimiento de la nucleación y del cristal puede ocurrir simultáneamente. La nucleación heterogénea es el mecanismo de nucleación dominante en materiales alimenticios (Zaritzky, 2006). Sin embargo, la nucleación se produce espontáneamente y estocásticamente y se ve afectada por varios factores como impurezas, rugosidades, propiedades de superficie, etc., que en general no puede controlarse fácilmente.

La velocidad de nucleación (núcleos por unidad de volumen por unidad de tiempo) puede ser determinada tanto para la nucleación homogénea como para la heterogénea con las siguientes ecuaciones:

$$B_{\text{hom}} = \frac{3}{2} D_{AB} (C_{NA})^{\frac{2}{3}} \sqrt{\frac{\gamma_{CL}}{kT}} \frac{1}{C_C N_A} \exp \left[-\frac{16}{3} \pi \left(\frac{\gamma_{CL}}{kT}\right)^3 \left(\frac{1}{C_N N_A}\right)^2 \frac{1}{v \ln S^2} \right] \quad (27)$$

$$B_{\text{het}} = \frac{1}{2\pi} a_{\text{for}} d_m \text{He}_{\text{ad}} (C_{NA})^{\frac{2}{3}} \sqrt{\frac{f\gamma_{CL}}{kT}} V_m \left(\frac{(\sin \theta) D_{\text{surf}} \text{He}_{\text{ad}} d_m^{\frac{3}{2}} (C_{NA})^{\frac{1}{6}}}{r_c} + 3\pi D_{AB} (1 - \cos\theta) \right) \exp \left[-f \left(\frac{16}{3}\right) \pi \frac{\gamma_{CL}}{kT} r_c^2 \frac{1}{(v \ln S)^2} \right] \quad (28)$$

Donde:

D_{AB} = difusividad [m^2/s]

C = concentración actual [mol /L]

N_A = Número de Avogadro [$N_A= 6.023 \times 10^{23}$ /mol]

γ_{CL} = tensión superficial

k = constante de Boltzmann [$k=1.3806504 \times 10^{-23}$ J/K]

T =Temperatura [$^{\circ}C$]

ν = Número de 3 moléculas o iones

S = velocidad de sobresaturación

a_{for} = superficie volumétrica de partículas externas [m^2 /m^3]

d_m = diámetro molecular [m]

He_{ad} = constante de adsorción

f = factor de corrección geométrica

θ = ángulo de superficie húmeda [grados]

D_{surf} = coeficiente de difusión superficial por unidad de movimiento de superficie exterior.

De forma similar, la nucleación de cristales de hielo puede expresarse también en relación con el grado de fusión presentes en la muestra. De acuerdo con este enfoque, una de ecuaciones generales de velocidad de nucleación está dada por (Calvelo, 1981; Zaritzky, 2006):

$$B = C_1 T \exp\left(\frac{-C_2 T_f^2}{T^2 \Delta T_s}\right) \quad (29)$$

Donde:

C_1 y C_2 = coeficientes en función del tipo de producto

T = es la temperatura del sistema,

ΔT_s = Temperatura de sobrefusión

T_f = Temperatura de inicial congelación del sistema.

De las ecuaciones anteriores, se puede concluir que la tasa de la nucleación homogénea y heterogénea depende de la sobresaturación o sobrefusión, la concentración real y la concentración de equilibrio, la temperatura, la tensión superficial, la difusividad y la densidad molar.

Mersman en 2001, (citado por Kiani y Sun, 2011), cita que otra parte del fenómeno de la nucleación está limitado por la transferencia de masa y las propiedades superficiales del material. La velocidad de nucleación heterogénea, es mucho mayor que la de nucleación homogénea, donde el factor crítico, lo es la superficie volumétrica (a_{for}), por lo que la estimación de estos parámetros es difícil y compleja.

La velocidad de nucleación superficial B_s en núcleos por metro cuadrado por segundo, depende de la difusividad (D_{AB}) de la energía de nucleación ($\Delta G_{max, s}$) y es expresada en forma similar a la nucleación primaria:

$$B_s = \frac{D_{AB}}{d_m^4} \exp\left(\pi \frac{-\gamma_{CL}^2 d_m^4}{(KT)^2 v \ln S_{met,s}}\right) \quad (30)$$

Donde:

$S_{met, s}$ = sobresaturación relativa.

II.3.2. Velocidad de congelación.

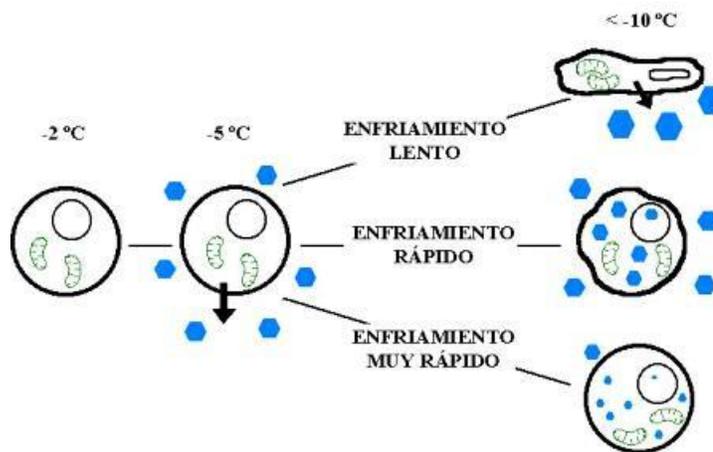
Una vez que la congelación se ha iniciado, el número de núcleos que se forman, la velocidad con la que ellos crecen y el tamaño al cuál llegarán, depende de la velocidad con la que el calor es transferido, esta velocidad no solo es función de los gradientes de temperatura externos, sino también de los gradientes internos, determinados por la conductividad térmica (k) y de la capacidad calorífica (C_p) de la fase sólida y líquida, de su calor latente (λ) y de la geometría del producto, por lo tanto, durante la congelación el ultimo efecto de estas variables será determinar la

velocidad de avance de la frontera congelada, ya sea a través del crecimiento de los cristales existentes o de la nucleación de nuevos cristales. Esto sucede a la temperatura inicial de congelación en donde la parte no congelada busca el equilibrio térmico con la interfase y, solo se alcanza cuando la temperatura exterior es relativamente alta y la velocidad de avance de la frontera congelada es lenta (Ried, 1993).

La velocidad de congelación ha sido definida de varias formas: Como la razón entre la distancia mínima de la superficie al centro térmico y el tiempo que se demora en que la superficie alcance a 0 °C y el centro térmico llegue -10 °C por debajo de la temperatura donde se inicia la formación de hielo en dicho centro (IIR, 1982) : el cociente de la diferencia de temperatura inicial y final por la duración de la congelación (°C/h) y la diferencia entre la temperatura inicial y final dividida entre el tiempo de congelación de un producto o envase (Umaña, 2007). Teniendo en cuenta que la temperatura puede variar de diferente manera durante la congelación en distintos puntos del producto, se ha definido una *velocidad local de congelación* para un determinado punto, como la diferencia entre la temperatura inicial y la temperatura deseada dividida entre el tiempo transcurrido hasta que dicha temperatura se alcanza en dicho punto. Sin embargo, la velocidad de congelación está gobernada por la velocidad de transferencia de calor y masa.

Cuando el agua es congelada a presión atmosférica su volumen se incrementa. Este incremento es una contribución del hielo I formado, el cual únicamente tiene una densidad menor que el agua líquida resultando en un incremento en volumen del 9 % a 0 °C y alrededor de 13 % a -20 °C causando daño de tejidos durante la congelación (Mortensen y col., 2006). El hielo común (Hielo I) en congelación de la carne permite la formación de ambos cristales de hielo intra y extra celular. En congelación rápida el hielo puede ser formado intracelularmente, afectando la estructura interna de la muestra y la viabilidad de funciones biológicas. En la conservación de carne el hielo extracelular resulta en un mayor daño y es formado a bajas velocidades de congelación (Molina-García y col., 2004).

El fluido que rodea y baña las células está constituido por una solución menos concentrada en nutrientes que el contenido en el interior de las células, y por ello se congelará a una temperatura menos baja. La formación de algunos cristales de hielo durante la congelación lenta concentra, en efecto, el fluido extracelular de tal forma que el agua sale de las células, diluyéndolo. (Goswami, 2010; Kiani y Sun, 2011). Las lipoproteínas que forman parte de la membrana celular sufren un cambio, por lo que ya no es capaz de conservar su naturaleza semipermeable. El agua, por lo tanto, sale de las células, dejando atrás un complejo de moléculas de proteínas irreversiblemente deshidratadas y desnaturalizadas, como se muestra en la Figura 2.17.



Enfriamiento Lento: $< 1\text{cm/h}$, por ejemplo un congelador doméstico con el aire inmóvil a -18°C
Enfriamiento rápido: $1\text{-}5\text{ cm/h}$, en un túnel de aire frío a 20 km/h y -40°C
Enfriamiento muy rápido: $> 5\text{cm/h}$, en la inmersión en nitrógeno líquido

Figura 2.17. Esquematación de 3 velocidades de congelación. (Hexágonos representan cristales de hielo de diferente tamaño según la velocidad de enfriamiento). (Badui, 2006).

Se ha demostrado que velocidades rápidas de congelación permiten que el agua congele entre los filamentos reales de miosina y actina, formando pequeños núcleos cristalinos que no llegan a dañar ni alterar la estructura del músculo. Sin embargo, también se ha observado que a medida que se prolonga el tiempo de congelación (velocidades muy lentas), aumenta el daño estructural debido a la formación de cristales demasiado grandes. Lo anterior se explica debido a que al

trabajar con velocidades de congelación muy lentas, los cristales de hielo suelen formarse primero en el exterior de la fibra, puesto que la presión osmótica extracelular es inferior a la del interior de la célula, por lo que a medida que transcurre la formación de hielo extracelular, el líquido extracelular que permanece sin congelar tiene cada vez más fuerza iónica y sale osmóticamente agua del interior sobreenfriado de la célula muscular. Finalmente esta agua que sale del interior de la célula congela sobre los cristales de hielo existentes, haciendo que aumente su tamaño y, por tanto, dañen o alteren la estructura de la fibra (Añon y Calvelo, 1980).

II.3.3. Crecimiento y tamaño de cristales de hielo por efecto de congelación.

La segunda etapa en la congelación se refiere al crecimiento de cristales, que es controlado por la forma y dirección de la remoción del calor en el sistema, liberándose calor específico del líquido y el calor latente de fusión y esta comienza cuando se tienen más de 300 núcleos. El desarrollo de cristales puede ocurrir a temperaturas muy próximas al punto de fusión y la velocidad de crecimiento aumenta moderadamente al aumentar la velocidad de remoción de calor hasta que las bajas temperaturas producen altas viscosidades y disminuyen las velocidades de crecimiento de cristales (Ried, 1983).

La principal fuerza impulsora de la cristalización es la reducción de la temperatura o la llamada cristalización por fusión (por ejemplo congelación de agua), el principal factor de control es la velocidad de transferencia de calor de la cara del cristal formado (Mullin, 2001). La temperatura en la superficie del cristal es más alta que en la superficie del cristal fundido sobreenfriado debido a la liberación del calor latente de cristalización y por lo tanto, se crea un gradiente de temperaturas, por lo que puede aplicarse la ley de Newton de enfriamiento para describir los fenómenos de transferencia de calor de la superficie del cristal hacia el medio ambiente a través de la capa límite de película. (Kiani y Sun, 2011). La velocidad de transferencia de calor puede describirse como:

$$\frac{dq}{dt} = hA(T_i - T) \quad (31)$$

Donde:

h = coeficiente convectivo de transferencia de calor [W/m² °C]

A = área superficial [m²]

T_i = temperatura interfásica [°C]

El flujo de calor por conducción en la dirección “x” a través del material que comienza a congelarse se rige por la primera ley de Fourier:

$$q_x = -K_1 A \frac{dT}{dx} \quad (32)$$

Donde:

K_1 = conductividad térmica [M/m°C]

dT/dx = velocidad de enfriamiento [°C/ s]

La velocidad de crecimiento de cristales (masa por unidad de tiempo) está dada por:

$$\frac{dm}{dt} = K_G A (T^* - T)^g \quad (33)$$

Donde:

dm/dt = velocidad de crecimiento de cristales [kg/ s]

K_G = coeficientes general de crecimiento de cristal

T^* = punto de fusión [°C]

El exponente “g” se conoce como el orden del proceso de crecimiento del cristal y generalmente presenta valores entre 1.5-2.5. El crecimiento de cristal durante la congelación de alimentos obedece a un patrón similar, sin embargo, la mayoría de los modelos consideran el cambio de temperatura en el producto y no el régimen de crecimiento de los cristales.

Las relaciones experimentales también pueden utilizarse para explicar la velocidad de crecimiento como por ejemplo, la relación entre el crecimiento de cristal de agua, G y el sobreenfriamiento, de Zaritzky, 2006. (Kiani y Sun 2011).

$$G = \beta(\Delta T_s)^n \quad (34)$$

Donde:

G= velocidad de crecimiento de cristal [kg/ s]

β y n= constantes experimentales

ΔT_s = Sobre enfriamiento [°C]

En éste punto se destaca que la viscosidad de la solución va aumentando, que tiene gran influencia la conductividad térmica de la misma solución, al igual que la concentración de componentes, que dan lugar al crecimiento de los cristales, a su forma y principalmente al tamaño y estructura del mismo, que repercutirán con las características de calidad del producto.

Está bien documentado que la congelación lenta produce la formación de cristales de hielo extracelular grandes mientras que congelación rápida produce muchos cristales de hielo pequeños distribuidos uniformemente en el tejido de la carne (Fennema, 2010; Sanz y col., 1999).

La dimensión de los cristales de hielo al final de la congelación depende del número de núcleos formados, que a su vez depende de la temperatura, a baja temperatura la nucleación es rápida dándose lugar a cristales de tamaño pequeño, de la misma forma la temperatura y la velocidad de congelación darán la forma de los cristales. Una congelación rápida formará cristales redondeados. Con frecuencia, aun para una misma temperatura de congelación, la cristalización resulta muy diferente de un tejido a otro: estas diferencias se deben al menos en parte a las variaciones del grado de movilidad del agua en los diversos tejidos (Chen, 1987).

El tamaño de cristal de hielo incluye ecuaciones relacionadas a la velocidad de enfriamiento o la velocidad de transferencia de calor y en la aplicación de los principios de transferencia de masa para su predicción. La velocidad de eliminación de calor de un producto durante el cambio de fase y el tiempo en esta etapa afectan significativamente el tamaño, morfología y localización y la eficiencia de congelación (Calvo, 1986, 1991; Bevilacqua y col., 1979; Bevilacqua y Zaritzky, 1980 y Li y Sun, 2002). Esta zona crítica se da entre -1 °C y -8 °C, y es donde se produce máxima formación y el mayor tamaño,

A forma de resumen se presentan algunas ecuaciones relacionadas al tamaño del cristal (Cuadro 2.3.).

Cuadro 2. 3. Ecuaciones relacionadas con tamaño de cristal.

Ecuación	Descripción de ecuación	Autor y año	No. ecuación
$D = a + b \ln t_c$	Relación entre el diámetro de cristales de hielo, D y el tiempo característico de congelación, t_c	(Bevilacqua y Zaritzky, 1980)	(35)
$D = m \left(\frac{dT}{dt} \right)^{-n}$	Modelo empírico de crecimiento dendrítico de cristales.	(Bald, 1986) reportado por Kiani (2011) $n = 0.5$ $m = \left(\frac{\pi U r_c}{2} \right) \sqrt{\frac{\rho_1}{k_1}}$	(36)
$t = \frac{D^2}{D_w}$	Considera proceso de difusión limitada de moléculas de agua en un tiempo limitado	Miyawaki (1992) reportado por Kiani 2011	(37)
$D \approx S \sqrt{\frac{16\Delta T D_w}{k(T_m - T_1)}}$	Considera crecimiento dendrítico.	Woinet y col., (1998)	(38)

D= promedio de tamaño de cristal

dT/dt= velocidad de enfriamiento en la congelación

m y n = constantes

dX/dt= velocidad de movimiento del frente frío en el interior del alimento

k = conductividad térmica de la fase congelada

t = tiempo

D_w = coeficiente másico de difusión de agua

S = posición inicial del frente frío [m]

ΔT = máximo subenfriamiento

T_m = temperatura inicial de congelación

T_1 = temperatura de enfriamiento

En general, las ecuaciones se basan en la teoría de propagación de crecimiento dendrítico de cristales a una cierta velocidad de enfriamiento asumiendo que este crecimiento se lleva a cabo a temperatura y flujo de calor uniforme. Se considera que el tamaño de cristal D , tiene una variación inversamente proporcional al avance del frente de hielo.

La ecuación 38 es un modelo que considera las propiedades del agua durante la transferencia de masa así como que la difusión molecular del agua es el mecanismo dominante para el crecimiento de los cristales en alimentos congelados, y está en función de la posición del frente de hielo a un máximo subenfriamiento.

II.3.4. Efecto del tamaño de cristal.

Se ha comparado el tamaño y localización de cristales de hielo en piezas grandes de carne congelada obtenidas por alta presión, blast freezing y nitrógeno líquido encontrándose que las primeras forman cristales de hielo pequeños y uniformes tanto en la superficie como en las zonas centrales mientras que en blast freezing y con nitrógeno líquido se tiene una distribución no uniforme de cristales de hielo (Li y Sun, 2001).

El tamaño de los cristales de hielo que se forman en la congelación está fuertemente influenciado por la velocidad de la misma, el flujo de calor y la dirección del flujo dentro del material, entre otras variables. Los cristales de hielo que se forman en las células animales, inducen a cambios morfológicos y la destrucción celular, así como la degradación de componentes, que pueden resultar en un

cambio de textura y en la formación de jugos exudados después de la descongelación. Los cristales de hielo en materiales congelados son generalmente difíciles de observar debido a sus variaciones dinámicas en morfología, tamaño, configuración, color y transparencia (Do y col., 2004).

El estudio de los cambios microestructurales por efecto de la congelación de la carne, se han basado en la determinación de los tamaños de cristal formados. Se han utilizado la microscopía electrónica y la microfotografía (Basset y col., 2000; Chandraratne y col., 2006; Martino y Zaritzky, 1989; entre otros) y el análisis hiperespectral (Qiao y col., 2007). Carballo y col., (2000) determinaron en la superficie de los cortes de carne, el color en coordenadas $L^*a^*b^*$ y realizaron un análisis de microestructura por microscopía electrónica de barrido a 10 μm . Mortensen y colaboradores (2006), ocuparon para análisis de microestructura un microscopio óptico de contraste de luz de 10x. Molina-García, y colaboradores (2004) utilizaron análisis microestructural para determinar el efecto del tipo de hielo sobre daños en carne, con la técnica de microscopía indirecta y confocal. Straadt y colaboradores (2007) con microscopio confocal laser en el análisis de microestructura para determinar el efecto de cocción con muestras de 2 mm de espesor. Qiao y colaboradores (2007) utilizan la técnica de imagen hiperespectral en la predicción de cambios en cortes de carne de cerdo únicamente utilizando una cámara fotográfica, una fuente de iluminación y software que permite el análisis. Basset y colaboradores (2000) utilizan cámara fotográfica conectada a computadora con fuente de luz ultravioleta y luz visible, tomando fotografías en escala de grises (256) con superficie de 3x3 cm para distinguir 512x512 pixeles que se analizan estadísticamente con un vectorial de imagen por fractales.

Ngapo y colaboradores (1999) estuvieron interesados en la medición de diámetros de 150 cavidades, dando confiabilidad a los resultados con la aplicación del análisis de varianza, percentiles 10 y 90, cuartiles y medianas, teniendo como resultado que el efecto de la congelación presenta áreas de $0.22 \times 10^{-3} \text{ mm}^2$ hasta $13.79 \times 10^{-3} \text{ mm}^2$. Martino y colaboradores (1998) y Sanz y colaboradores (1999) muestran diámetros de 3.03 hasta 18.81 μm en superficie y centro de las muestras,

en el estudio de la congelación por evaporación de nitrógeno líquido, con mayor diámetro promedio de cristales de hielo en la parte exterior que en el centro de la muestra. Sin embargo, en la mayoría de los estudios no se presenta un soporte estadístico para la confiabilidad de resultados.

Martino y colaboradores (1998), encuentran que existe un efecto sobre el tamaño de cristal al aplicar altas presiones, Nitrógeno líquido y congelación por convección forzada, y que existe inicialmente una congelación extracelular y posteriormente una intracelular, dando tamaños a alta presión menores que en la congelación por convección forzada. Registraron diámetros desde 2.34 a 31.11 μm , por análisis microscópico con técnica indirecta, en más de 100 cavidades, determinando mayor daño en la carne de cerdo procesada en túnel de congelación (air blast) que por congelación a alta presión asistida o por nitrógeno, basando su análisis en promedios y desviaciones estándar; al aplicar altas presiones y bajas temperaturas, con posterior expansión adiabática para provocar la congelación, Zhu y colaboradores (2006) vieron que se producen cristales finos y de tamaño uniforme, considerando por lo tanto, que el tamaño correspondería al de una nucleación en una congelación convencional con menor deterioro en la calidad de la carne.

La textura en la carne es un importante atributo sensorial condicionado por el nivel de grasa que contribuye en las propiedades reológicas y estructurales; está relacionada principalmente con las proteínas y su comportamiento. Sin embargo, el concepto de textura estadística es totalmente diferente del utilizado en la industria alimentaria. Mientras que en ésta última, la dureza, cohesividad, viscosidad, elasticidad, adherencia o fragilidad son parámetros usualmente medidos en ese ámbito, en la textura visual es posible obtener parámetros totalmente distintos gracias a la información almacenada en cada píxel de la imagen, como valores de color, tono, saturación, brillo, dependiendo del modo de color; la alteración de los valores en la intensidad de los píxeles conforma la textura de la imagen, que puede contener información de la estructura geométrica del objeto, puesto que un gran cambio en los valores de intensidad indican variación en la estructura. La información textural en una imagen está contenida en la relación espacial que los

tonos de gris tienen entre ellos y la distribución de los valores de intensidad a nivel espacial, por lo que la textura bajo este contexto se define como homogénea o no, suave o irregular y fina o gruesa.

Esas relaciones están especificadas en una matriz de co-ocurrencia espacial (o de niveles de gris) que son computadas en una dirección específica (0° , 45° , 90° y 135°) entre los píxeles vecinos dentro de una ventana móvil dentro en la imagen.

La matriz de coocurrencia (matrices de dependencia espacial o GLCM, (gray-level co-occurrence matrix); es considerada una medida estadística de segundo orden, e incorporan información espacial en forma de posición relativa entre niveles de intensidad dentro de la textura; son de hecho histogramas bidimensionales. Dada la imagen T de una textura, una matriz de co-ocurrencia se define en base a dos parámetros: d – distancia y f – orientación (Haralick 1979). Según Zheng, Sun y Zheng (2003) y Zhang, De Baerdemaeker y Schrevens (2003), hay diferentes tipos de textura, la estadística, la estructural, la basada en el modelo de textura, y a la textura basada en la transformación. La primera es más comúnmente utilizada por su precisión y por la reducción de los tiempos de procesamiento de la imagen.

Recientemente, técnicas como ANN (Artificial Neural Network) se han aplicado en la clasificación, predicción y segmentación en la evaluación de calidad de los productos alimenticios usando la visión de la computadora. ANN ha demostrado su viabilidad en la carne de vacuno, tal como terneza y predicción de la madurez y su relación con pruebas sensoriales (Li, Tan, Martz, & Heymann, 1999), relación de la terneza con color y vetado Hatem, el Tan, y Gerrard (2003), análisis de carne magra color y fresca (Li, Tan, Shatadal, 2001).

Los usos del SL (Statistical Learning) también se han ampliado para la clasificación de los productos de la industria pesquera y de carne. En carne vacuna para detección de calidad y color, (Zhang, De Baerdemaeker, & Schrevens, 2003) usando tanto imágenes de cámara fotográfica como imágenes ultrasónicas. Las

learning techniques intentan conjugar el comportamiento de rasgos o características de textura con los valores nutritivos correspondientes de un sistema de muestras, para predecir o clasificar la calidad de los alimentos de un sistema de prueba, las características textural de otro sistema de prueba (Flach, 2001).

II.3.5. Recristalización.

Se entiende por recristalización al aumento de tamaño de algunos cristales y la desaparición de cristales pequeños (menores a 2 micras por ser los menos estables) y que puede ser explicada desde el punto de vista termodinámico por el hecho de que los cristales pequeños poseen por unidad de masa, una mayor energía superficial y una mayor presión de vapor de agua que los cristales grandes. El proceso de recristalización es más rápido cuando la temperatura del sistema está próxima al punto de fusión.

Gill, y colaboradores (1988), llegan a establecer, bajo los mismos principios y considerando de una forma u otra los mismos parámetros termodinámicos que todas las teoría se relacionan con el tamaño y forma de cristal y que se ven afectados de mayor forma por la recristalización o los cambios en la temperatura durante el almacenamiento, pero considerando principalmente la energía interfasial y la forma esférica que puede tener el cristal, de tal forma que se puede establecer que la base principal para determinar el tamaño del cristal, según los números de Stefan y Peclet es:

$$St = \frac{\Delta T}{L/cp} \quad (39)$$

$$P = \frac{Vg}{2\alpha} \quad (40)$$

Donde:

Vg= velocidad de crecimiento

R= radio característico

Te= temperatura de equilibrio

L= calor latente de fusión

cp= capacidad calorífica

α = Difusividad térmica, por lo tanto:

$$VgR^2 = 100 \frac{Te^{ky}}{\rho^2 L^2} = \frac{8\pi Teky}{\rho^2 L^2} \quad (41)$$

k= conductividad térmica

y= energía interfásial o tensión superficial

ρ = densidad.

Por lo tanto el tamaño del cristal estará dado por:

$$R = 4\pi^2 \frac{c_p y T_e}{\rho L^2} [f(S_t)]^{-1} \quad (42)$$

Cuando se tiene convección y una estructura dendrítica, generalmente dada en el caso de alimentos, se tiene que la velocidad de crecimiento está dada por:

$$Vg = V_f^{1/2} \Delta T^{3/2} \quad (43)$$

V_f = velocidad de fuerza de convección.

Smith (1987) determinó en carne de pavo que el almacenamiento de productos congelados puede provocar la insolubilización de las proteínas miofibrilares, así como cambios en las propiedades funcionales de las mismas y la lipoxidación, asumiéndose como una consecuencia de la recristalización por fluctuaciones de temperatura.

Bevilacqua y Zaritzky (1982), establecen el efecto de las fluctuaciones de temperatura en el almacenamiento y que representan un efecto sobre la recristalización, disminuyendo los beneficios en calidad adquiridos por una congelación rápida. Para ellos la palabra recristalización incluye cualquier cambio en el número, tamaño, forma u orientación de los cristales después de la nucleación inicial o solidificación, que puede explicarse con bases termodinámicas ya que todos los sistemas tienden a estados de menor energía.

Fenemma, citado por Bevilacqua y Zaritzky (1982), clasifica el fenómeno de recristalización de la siguiente forma: a) isomásico, b) migratorio, c) acumulativo, d) inducido por presión y, e) irruptivo. Las formas a, b y c son las recristalizaciones más probables en la congelación de alimentos y todas ellas tienden a disminuir la energía superficial en la fase de cristalización, la primera cuando un cristal de forma irregular y de gran superficie adopta una superficie más compacta; el segundo, referido a recristalización migratoria, o sea, el crecimiento de cristales grandes a expensas de los pequeños y la recristalización acumulativa que ocurre cuando están en contacto cristales que permanecen juntos y así aumentar el tamaño del cristal. Cuando se habla de recristalización por efectos de presión, generalmente se habla de una transmisión por cambio de fase del vapor por ablación.

Para cristales individuales, el principio de la mínima energía libre significa que existe una tendencia al equilibrio.

En el caso de los agregados poli cristalinos, el principio de la mínima energía indica la tendencia hacia la reducción del número de cristales pequeños hacia cristales con mayor superficie y por lo tanto los pequeños serán adheridos o absorbidos por los grandes. En este caso debe considerarse que el movimiento dependerá de la velocidad que tienen las moléculas para moverse en disolución acuosa. Por lo tanto se propone la ecuación que determina el diámetro promedio de los cristales:

$$\frac{d\bar{D}}{dt} = \frac{K}{\bar{D}} \quad (44)$$

$$K = K_0 e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (45)$$

Donde:

Ea= energía de activación.

Integrando la ecuación de diámetro promedio se tiene:

$$(\bar{D})^2 - (\bar{D}_0)^2 = 2Kt \quad (46)$$

Donde:

D₀= diámetro inicial del cristal

II.3.6. Efecto de las fluctuaciones de temperatura y formación de escarcha en la congelación de la carne.

La formación de escarcha y la fusión de la misma en materiales complejos como la carne, tienen gran importancia ya que modifican características de calidad visibles como el color (Laguerre y Flick, 2007) y no perceptibles por el consumidor como el daño estructural de las fibras. Existen estudios relacionados con la medición del espesor de escarcha en placas metálicas (Lee, 2004 y Sahin, 2000) bajo condiciones controladas de Humedad Relativa (HR) y temperatura (T) en alimentos como carne y algunos otros productos. Wang y colaboradores (2004), relacionan el efecto sobre la pérdida de peso, aplicado en congeladores comerciales que presentan variaciones propias en ciclos de paro y arranque del compresor lo que se manifiesta en variación de temperatura.

Se presentó formación de escarcha dendrítica y amorfa (Akyurt, Zaki y Habeebullah, 2002) y un 4 % pérdida de peso en el segundo ciclo de congelación.

Las fluctuaciones de temperatura, ocurren normalmente durante el transporte, el almacenamiento y/o el consumo; ciclos repetidos de congelación-descongelación son muy comunes en la venta al menudeo, en el hogar o en restaurante, lo que propicia un crecimiento irregular del daño en la estructura, contribuyendo así a cambios más drásticos en el sistema cárnico, teniéndose una menor estabilidad térmica, Gormeley y colaboradores (2002) y Hansen y colaboradores (2004) han estudiado el efecto de las fluctuaciones de la temperatura de proceso y de almacenamiento en congelación, sobre alteraciones físicas diferentes, relacionándolas con la capacidad para enlazar y distribuir el agua durante el proceso y en las modificaciones sobre compuestos grasos.

El efecto de la temperatura ambiente y apertura de puerta, entre otras variables ha sido estudiado por Saidur y colaboradores (2002) su estudio puede considerarse una condición de uso real que existe en el entorno doméstico, sin embargo es relacionado con el consumo de energía y su relevancia en la eficiencia del equipo.

Cuando los productos alimenticios se conservan en un congelador, se desarrollan cristales de hielo en el envase, lo que es conocida como la formación de escarcha. Los fenómenos tienen lugar cuando la temperatura de la superficie de producto es inferior a la temperatura de rocío de aire circundante. Cheng y Cheng (2001) citan que la formación de escarcha puede ayudar a minimizar la deshidratación de los alimentos al sellar la salida de los jugos o agua con agentes que propician sabor, debida a la formación de una corteza en la capa externa de un producto alimenticio, sin embargo esta práctica es común en productos del mar como peces y camarones que son sometidos a almacenamiento en congelación, actividad denominada como "Glaseado", y que es la formación de una delgada capa protectora de hielo que se forma en la superficie de un producto congelado al rociarlo con agua potable, sumergirlo en ella con aditivos aprobados. (Vanhaecke Verbeke y De Brabander, 2010).

Laguerre y Flick (2007) citan que a menudo, la formación de escarcha es acompañada por deshidratación superficial para determinados productos. Esta

deshidratación puede inducir a la modificación de color, el enranciamiento y pérdida de peso entre otras desventajas, este estudio se realizó en vegetales empacados y durante el almacenamiento. En cuanto a la formación de escarcha, se han desarrollado modelos teóricos y experimentales, empíricos y semiempíricos que consideran los efectos de la temperatura, velocidad y humedad relativa del aire, temperatura superficial del material, sobre el espesor, (Cheng y Shiu, 2002) (Gall y Grillot (1996), determinan la formación de escarcha en productos no alimenticios como son placas de cobre o aluminio con aplicación de campo eléctrico para eliminación de formación de escarcha, con y sin campo eléctrico (Wang y col., 2004); en convección forzada y natural (Fossa y Tanda, 2010), en cilindro capilar (Lee y Ro, 2005), tanques criogénicos expuestos a condiciones atmosféricas (Kim y col., 2009) y la morfología de la escarcha (Qu y col., 2006), asumiendo, en todos los casos la importancia de la transferencia de calor y masa en la formación de la misma. A grandes rasgos, se presentan algunas de las consideraciones que han realizado los autores antes mencionados: (1) La densidad de la escarcha se supone uniforme en cualquier instante con procesos de transporte unidimensional. (2) La capa de escarcha crece en la dirección perpendicular a la superficie de la placa fría. (3) Tanto el calor y como los coeficientes de transferencia de masa en la superficie de la escarcha deben ser constantes, (4) Se debe considerar la Ley de los gases ideales, (5) La presión de total de la fase gaseosa es constante a lo largo de la capa de escarcha porosa e igual a la presión atmosférica normal; (6) Los efectos de la convección y radiación son insignificantes dentro de la estructura de escarcha, entre otras. No obstante, este tipo de análisis no ha sido probado en el caso de la congelación de alimentos.

Para la determinación de espesor de escarcha, Cheng y Shiu (2002) (Cheng, 2002) utilizan sistema de imagen microscópica con camera fotográfica y una unidad de iluminación sin radiación térmica, una unidad de lente zoom/ampliación (158 x), tomando las fotografías de la formación de la escarcha en el intervalo de tiempo ajustable. Un equipo de cómputo con un digitalizador de color recibe los datos de imagen y éstas son analizadas con un procesador de imagen con micro escala. Wang y colaboradores (2004) utilizan 3 cámaras que toman fotografías

laterales y de la superficie de la escarcha. El sensor de imagen es de 1/4 pulgadas para tener 410 píxeles con un sistema de exploración de 525 líneas y 60 campos/s. Qu y colaboradores (2006) midieron el espesor de la capa de escarcha, utilizando la barra de desplazamiento de láser. La morfología de la superficie de la escarcha fue observada y grabada con la cámara CCD. Do y colaboradores (2004), mencionan que la formación de cristales durante la congelación es generalmente difícil de observar debido a sus variaciones dinámicas en morfología, tamaño, configuración, color y transparencia, por lo que también resulta difícil determinar las características de la escarcha.

Al unir los efectos de la congelación con las fluctuaciones de temperatura se contribuye a cambios mucho más drásticos en el sistema cárnico, teniéndose una menor estabilidad térmica.

Las pérdidas de agua en carne congelada se deben al cambio de fase que sufren los cristales de hielo que se generan en la periferia del producto, cuando el hielo se sublima, se genera un fenómeno de deshidratación superficial e irreversible que a su vez favorece una serie de reacciones oxidativas. Esta pérdida prevalece, cuanto mayor sea la temperatura de almacenamiento, ya que en la superficie del producto la presión parcial del vapor de agua aumenta con la temperatura (Sakata y col., 1995). Dependiendo del tipo de envase de los productos cárnicos congelados, es posible reducir considerablemente las pérdidas de agua que también se ven favorecidas por las fluctuaciones de temperatura, dando lugar a la formación de escarcha sobre el producto (Bertram, Andersen y Andersen., 2007).

La exposición de alimentos congelados a altas temperaturas o a fluctuaciones de las mismas produce efectos acumulativos adversos en los alimentos almacenados. Durante el período de almacenamiento, los cambios físicos que afectan a la calidad de frutas y verduras congelada son el resultado de fenómenos recristalización y sublimación, relacionados con la estabilidad de los cristales de hielo dentro y en la superficie de los productos. La recristalización y el secado superficial son acelerados por fluctuaciones de temperatura durante la congelación, aunque la importancia de estos cambios físicos disminuye a

temperaturas más bajas de almacenamiento. El efecto de la fluctuación de temperaturas en congelación sobre el color, contenido de ácido ascórbico y cambios en micro estructura de berros en una situación real de almacenamiento durante 4 meses, mostraron mayor diferencia en las variables que las que no tuvieron fluctuaciones de temperatura. La luminosidad varió probablemente por la formación de cristales o la pérdida de agua, la vitamina C cambia por la conversión del ácido con otra estructura. En un estudio con frambuesas congeladas, verificó que la variación de temperatura es un factor mucho más importante que el tiempo de almacenamiento (Cruz y col., 2009).

II.4. Composición estructural y química de la carne.

La carne es el tejido muscular esquelético de los animales después del sacrificio y de una serie de reacciones y cambios bioquímicos que suceden por un periodo conocido como *rigor mortis* y durante la maduración. (ANEXO 1) También se ha definido a la carne como a los tejidos muscular, conjuntivo y elástico, grasa, vasos linfáticos y sanguíneos, nervios, etc. que constituyen las masas musculares que cubren el esqueleto del animal (Coulter, 1996; NMX-FF-081-SCFI-2003).

II.4.1. Composición estructural.

El tejido muscular se divide en tres categorías: músculo liso (presenta funcionamiento involuntario y se encuentra en sistemas gastrointestinales, cardiovasculares y el aparato respiratorio); el músculo cardíaco (localizado en el corazón y en la raíz de los vasos sanguíneos) y el músculo esquelético que actúa bajo control nervioso voluntario que transforma la energía química en energía mecánica y es el principal componente de la carne (Ranken, 2003).

El músculo esquelético está organizado, como se aprecia en la Figura 2.18. en fibras musculares individuales que representan la unidad contráctil del músculo. Cada fibra muscular es una sola célula con varios núcleos, es alargada y cilíndrica

(diámetro de aproximadamente 60 μm) que puede alcanzar una longitud de 34 cm y está rodeada por una membrana celular, el sarcolema (Lawrie, 1998).

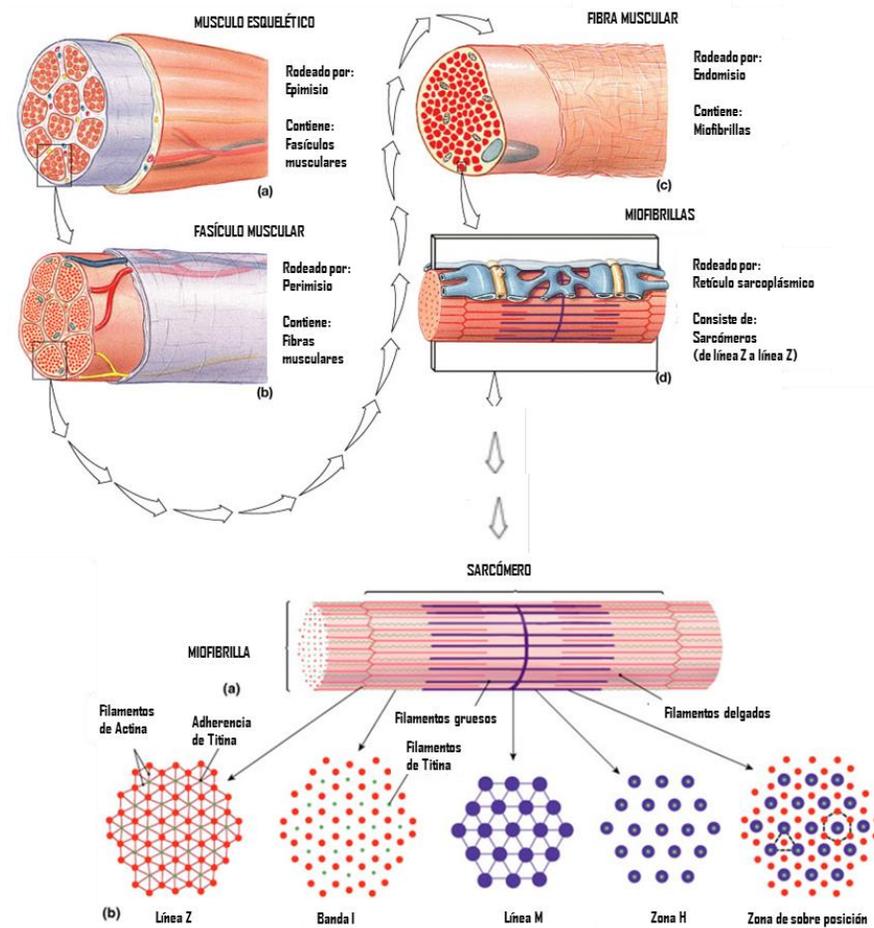


Figura 2.18. Organización de fibras musculares. (Astiasarán y Martínez, 2011).

El endomisio es tejido conectivo que cubre la fibra muscular; el perimisio es tejido conectivo que cubre un haz de fibras musculares (donde se encuentran los vasos sanguíneos de mayor tamaño y los nervios) y el epimisio, el tejido que cubre al músculo. Las fibras pueden ser rojas y blancas. La cantidad y constitución de las fibras musculares determinan la buena calidad de la carne; estas deben sobrepasar cuantitativamente al tejido conectivo.

El sarcoplasma representa la parte líquida (gelatinosa) de las fibras musculares. Llena los espacios existentes entre las miofibrillas. Equivale al citoplasma de una célula común. Se encuentra constituido de los organelos celulares (las mitocondrias, aparato de Golgi, liposomas, entre otros), glucógeno, proteínas, grasas, minerales (potasio, magnesio, fosfato), enzimas, mioglobina, entre otros.

Los túbulos T, son extensiones del sarcolema que pasan lateralmente a través de la fibra muscular. Se encuentran interconectados (entre miofibrillas). Sirven de vía para la transmisión nerviosa (recibido por el sarcolema) hacia las miofibrillas, permiten que la onda de depolarización pase con rapidez a la fibra o célula muscular, de manera que se puedan activar las miofibrillas que se encuentran localizadas interiormente. Además, los túbulos T representan el camino para el transporte de líquidos extracelulares (glucosa, oxígeno, iones).

El filamento delgado está compuesto por actina, que es de forma globular y se agrupa formando dos cadenas; la tropomiosina que es en forma de tubo y se enrolla sobre las cadenas de actina y la troponina, que se une a la cadena de actina y tropomiosina a intervalos regulares. El filamento grueso está formado por 200 moléculas de miosina, cuya forma tiene dos partes, dos colas de proteínas enrolladas y en sus extremos, las cabezas de miosina que realizarán los puentes cruzados.

El sarcómero representa la unidad funcional básica (más pequeña) de una miofibrilla. Son las estructuras que se forman entre dos membranas Z consecutivas. Contiene los filamentos de actina y miosina (formada por una banda A y media banda I en cada extremo de la banda A). Un conjunto de sarcómeros forman una miofibrilla. Los componentes del sarcómero (entre las líneas Z) son, la Banda I (zona clara), Banda A (zona oscura), Zona H (en el medio de la Banda A), el resto de la Banda A y una segunda Banda I. Estas bandas corresponden a la disposición y traslape de los filamentos (Lonergan, Zhang y Lonergan, 2010).

El número de fibras está determinado antes del nacimiento, pero en el caso del cerdo se conserva la capacidad de multiplicación fibrilar posterior al nacimiento. La tipificación fibrilar está relacionada con la velocidad del descenso del pH postmortem de la carne, la aparición de carnes pálidas, blandas y exudativas y con situaciones de estrés. Una relación adecuada del porcentaje de fibras musculares y las características del as de fibras contribuyen a optimizar las características organolépticas de la carne. Choi y Kim (2009) establecen que las fibras musculares se dividen en varios tipos, dependiendo de las isoformas que expresan las cadenas pesadas de miosina (MHC). Además, que las cadenas troponina y tropomiosina pueden influir en las características de la fibra muscular y que éstas isoformas se pueden desarrollar en rigor mortis y en consecuencia afectan la calidad de la carne.

II.4.2. Composición química y la funcionalidad de sus elementos.

El mercado mexicano a diferencia del de Estados Unidos, se caracteriza porque el consumidor demanda carne magra, por ello se presenta en el Cuadro 2.4. la composición general de cortes de cerdo magros, mencionando que es una composición general puesto que autores como Jiménez-Colmenero y colaboradores (2010) reportan que existe una variación en la composición nutricional con respecto al tiempo de almacenamiento y a la presentación de la carne, ya sea en piezas o molida, en cuanto al perfil de ácidos grasos, concentración de colesterol, valor energético y contenido mineral.

- **Agua.**

El agua es el mayor constituyente de la carne, aproximadamente de 62 a 78 % del tejido muscular. La mayor parte del agua de composición se encuentra en el interior de las células, separada por la membrana celular y sometida a cambios iónicos por proceso de ósmosis. Una fracción de ella acompaña a las sales minerales y ocupa los espacios extracelulares. En la carne se considera que existe agua de constitución, localizada en el interior de la proteína fuertemente ligada a los grupos específicos o ubicada en regiones intersticiales; también se encuentra el

agua de interfase, fuertemente retenida cuya presión de vapor es menor que la del agua normal, localizada en la interfase agua-proteína, o muy cerca de ella.

Cuadro 2. 4. Composición general de la carne de cerdo magra.

(<http://www.tabladealimentos.net>)

Código:	4027		
Nombre Común:	CERDO, CARNE MAGRA, COCIDA		
Nombre en Inglés:	PORK, FRESH, LEAN, COOKED, ROASTED		
Categoría:	CARNE DE CERDO		
Agua	61.02 %	Vit. A Equiv. Retinol	2.00 µg
Energía	209.00 Kcal.	Ác. Grasos Mono-Insat.	4.32 g
Proteína	28.62 g	Ác. Grasos Poli-Insat.	0.76 g
Grasa	9.63 g	Ác. Grasos Saturados	3.51 g
Carbohidratos	0.00 g	Colesterol	81.00 mg
Fibra Diet. Total	0.00 g	Potasio	425.00 mg
Ceniza	1.25 g	Sodio	58.00 mg
Calcio	18.00 mg	Zinc	2.53 mg
Fósforo	249.00 mg	Magnesio	28.00 mg
Hierro	1.09 mg	Vitamina B6	0.55 mg
Tiamina	1.02 mg	Vitamina B12	0.73 µg
Ribofavina	0.33 mg	Folato Equiv. FD	1.00 µg
Niacina	5.89 mg	Fracción Comestible	0.72 %
Vitamina C	1.00 mg		

El agua del sistema celular, presente como agua ligada no suele fluir libremente de las células aun cuando se destruya el sistema celular, se refiere a la suma del agua de constitución y el agua interfásial vecinal, mientras que las restantes fracciones se consideran como “agua inmovilizada”. En cambio, el agua denominada libre fluye fácilmente y sus propiedades son análogas a las del agua normal o de las soluciones salinas diluidas. La cantidad de agua inmovilizada dentro del tejido muscular depende de la organización espacial de las proteínas miofibrilares, es decir, de la disposición de los filamentos de actina y miosina.

Ruíz-Cabrera y colaboradores (2004) han utilizado imágenes de densidad de protón por RMN para determinar la pérdida de agua en función a la temperatura de secado y a la dirección de las fibras musculares en carne de cerdo específicamente, reportando que existe estrecha relación con el contenido de lípidos presentes.

- **Carbohidratos.**

El contenido en carbohidratos del tejido muscular es muy pequeño; el glucógeno, que es el carbohidrato del músculo más importante, supone aproximadamente de 0.5 al 1.3 % del peso del músculo, específicamente en la carne de cerdo. Los carbohidratos restantes constituyen los mucopolisacáridos asociados a los tejidos conectivos, la glucosa; otros, mono o disacáridos y los intermediarios del metabolismo glucolítico. El glucógeno juega un papel importante en el proceso de maduración de la carne, colaborando con la caída del pH, conjuntamente con ciertos compuestos procedentes de la transformación del ATP. Los músculos en movimiento son los de mayor contenido de glucógeno, mientras que en los músculos menos móviles solamente se encuentra un 2.5 % del contenido total de azúcares (Aberle y Forrest, 2001).

Dentro de los principales minerales que se encuentran en la carne, tenemos al hierro, magnesio, fósforo, potasio y zinc, entre otros; y dentro de las vitaminas a la tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B12 y vitamina B6 o piridoxina. Estos elementos pueden encontrarse como macroelementos, microelementos u oligoelementos. Durante la maduración de la carne desaparece la dureza debida al rigor mortis y aparece una proteasa muy específica que se activa a pH alrededor de 5.0 y que requiere la presencia de iones Ca^{2+} ; produciendo la degradación de los filamentos y le proporciona la blandura a la carne (Badui, 2006). La carne de cerdo en su composición presenta vitaminas del complejo B, principalmente la B6 y la 12 (Madrid y col., 2003).

- **Minerales y vitaminas.**

Los minerales existen en el músculo, y tienen funciones importantes, tanto en forma de iones disueltos en los líquidos celulares, como de constituyentes de compuestos esenciales. El equilibrio de iones y minerales regula la actividad de muchas enzimas, conserva el equilibrio de ácidos, bases, la presión osmótica y facilita el transporte de diferentes compuestos entre otras funciones.

- **Grasas.**

La composición química de las grasas depende en primer lugar de la especie animal y del tejido del que procede, ya que existe diferencia en su composición en ácidos grasos.

De acuerdo con su localización, existen dos tipos de grasa animal: las grasas de depósito y las grasas intercaladas entre las fibras musculares.

La grasa es el componente más variable de la carne en cuanto a composición. La carne de cerdo aporta grasas monoinsaturadas (un enlace doble) de tipo ácido oleico similar al del aceite de oliva; en promedio el 48 % y ayuda a reducir los niveles de colesterol malo (LDL) y aumenta el colesterol bueno (HDL). En general la carne de cerdo contiene menos colesterol que otros tipos de carne, y su aporte calórico no es tan alto como se pensaba. El contenido lipídico de los músculos es muy variable y se compone fundamentalmente de lípidos neutros (triglicéridos) y fosfolípidos. Aunque en las fibras musculares se encuentran algunos lípidos intracelulares, la mayoría se localizan en los depósitos de tejido adiposo asociado al tejido conectivo laxo que se encuentran entre los haces musculares. A este último tipo de depósito graso se le conoce como veteado, marmorización o grasa intramuscular. Se han realizado esfuerzos por disminuir la oxidación de lípidos en carne de puerco, evaluando la calidad oxidativa relacionada con la alimentación de animales proporcionándoles suplementos dietéticos con aceite de girasol y α tocoferol y sometiendo la carne a exposición solar durante 3 días encontrándose existe menor daño con el aceite (Cardenia y col., 2011).

Dentro de las funciones metabólicas de las grasas está la de servir de vehículo a las vitaminas liposolubles (A, D, E, K). Los lípidos de cerdo, presentes en el tejido muscular, en cantidad no mayor de 3-5 %, proporcionan características de jugosidad, ternura y buen sabor, además de ser indispensables en la fabricación de productos cárnicos porque aportan palatabilidad y textura.

La carne de cerdo cumple con las exigencias de la American Heart Association con relación a los contenidos de grasa saturada, ya que al consumir 100

g de lomo cocido, se estará consumiendo sólo 2.4 g de este tipo de grasa. Esta cantidad representa menos de 10 % del máximo recomendado para ser ingerido por día.

Jeong y colaboradores (2010) no encontraron asociaciones entre la ternura y la composición de ácidos grasos en carne de cerdo cocida pero si una correlación con el sabor; se correlacionó también el contenido de ácidos grasos y la dirección de fibras musculares con la capacidad de retención de agua, la jugosidad y suavidad.

En cuanto al colesterol, las piezas más magras aportan entre 60 y 80 mg por cada 100 g, una cantidad inferior a la que presentan el cordero o el vacuno y de esta manera, la ingesta de una porción de carne de cerdo aporta una cantidad inferior al 25 % del máximo recomendado (300 mg/día).

<http://www.fundacioncardiologica.org/protectores/fichas/cabania-todo.html>

- **Proteínas.**

Desde el punto de vista de la nutrición, los compuestos nitrogenados de la carne son probablemente los más importantes. Estos compuestos pueden dividirse en nitrógeno proteico y no proteico. Entre las materias nitrogenadas no proteicas se encuentran la creatina y la creatinina, cuya proporción en la carne es constante, por lo que ambas constituyen parámetros de calidad que permiten conocer el contenido de carne en embutidos. Se encuentran también aminoácidos esenciales, péptidos sencillos, fosfato de creatina, algunas vitaminas, nucleósidos y nucleótidos, incluido el adenosintrifosfato (ATP).

Las proteínas contenidas en la carne de cerdo, son útiles debido a que por medio de ellas se sintetizan aminoácidos y estos a su vez, participan en múltiples funciones importantes como las síntesis de purinas, pirimidinas, péptidos, proteínas, neurotransmisores, ciertas hormonas, ácidos biliares, etc. que se relacionan con ciclos metabólicos como el de la urea, descarboxilación oxidativa, glucogénesis, cetogénesis, síntesis de lípidos, oxidación, etc. (Coulter, 1996; Badui, 2006).

Dentro de las proteínas, se encuentra un sistema de proteinasas como el sistema de la calpaína, compuesto por muchas isoformas de la enzima proteolítica, que tienen su función principal en la contracción muscular en unión con los iones Ca^{++} y la actividad de estas enzimas proteolíticas depende de la ubicación de los sitios activos para su funcionamiento, que permiten la autólisis reduciendo el contenido del ion y dando finalmente la inactivación de las enzimas. Las calpaínas en el músculo tienen la función proteolítica de las proteínas del cito esqueleto (titina y nebulina) y de filamentos intermedios (desmina) que inician la degradación de las proteínas. La calpastetina es un inhibidor de las enzimas calpaínas, es degradada en el músculo después de la muerte. Estos complejos enzimáticos están muy relacionados con la ternura de la carne. Existen también proteínas de oxidación que también están encargadas de los cambios ocurridos después de la muerte, y que oxidan las proteínas miofibrilares, así mismo son resultado de la conversión de aminoácidos residuales como la histidina que la convierten a derivados carbonílicos y causan la formación de uniones de sulfuro de las proteínas. La oxidación ocurre en la primera etapa posmortem e influye en la proteólisis.

El óxido nítrico es producido en el sistema cárnico por otra familia de enzimas, óxidonitrosintetasas que son importantes por su función como segundo mensajero, se combinan con otras moléculas con actividad fisiológica con proteínas que contienen cisteína, metionina o triptófano.

La titina y la nebulina son proteínas de gran tamaño y solo se encuentran en mamíferos y en el músculo estriado. La primera, se expande a lo largo del sarcómero durante la contracción muscular. La segunda, se extiende en la banda Z en la parte final de los filamentos; ambas son degradadas después de la muerte, y son importantes en la ternura de la carne.

La Troponina T es degradada por la calpaína y produce polipéptidos, sin embargo se presenta después de la muerte; su degradación es indicador de proteólisis postmortem. La Desmina y la Filamina, son intermediarios de los filamentos de proteína que conectan a las miofibrillas y a otras estructuras celulares, dando integridad al músculo, son degradadas en condiciones postmortem y se

relacionan con la terneza y la capacidad de retención de agua (Lonergan y col., 2010).

Las proteínas desempeñan un papel fundamental tanto en la calidad de la carne como en sus habilidades tecnológicas, entre las que se encuentran las capacidades de hidratación y ligazón de agua, de emulsión de grasa, de gelificación, de formación de espuma, de cohesión, de viscosidad, entre otras. La capacidad de retención de agua (CRA) se describe como la capacidad de la carne de retener “su” agua durante la aplicación de fuerzas externas, tales como corte, calentamiento, trituración y prensado. La CRA es una propiedad de importancia decisiva en la calidad de la carne, tanto para la destinada al consumo directo como para la dirigida a industrialización.

El entramado proteico está constituido por una red tridimensional de filamentos delgados y gruesos dentro de la unidad de la fibra muscular. Cuando decrece la cohesión entre los filamentos de actina y miosina, la longitud del sarcómero aumenta, lo cual facilita una mayor retención de agua. (Flores y Bermell, 1984). En cambio cuando este entramado es muy denso, por efecto del traslape de los filamentos, la longitud del sarcómero disminuye y, como consecuencia, queda muy poco espacio para albergar a las moléculas de agua. En esta distensión y acortamiento del sarcómero intervienen, tanto la carga eléctrica de las proteínas como la presencia de ATP que impide la unión de los filamentos actina y miosina, así como también el pH, y los cambios post-mortem (Kirk, Sawyer y Egan 1996).

La distribución de los principales constituyentes proteicos del músculo es la siguiente: Proteínas del tejido conjuntivo (colágeno, elastina, etc.): 10 a 15 %; Proteínas sarcoplasmáticas (enzimas glicolíticas, mioglobulina, etc.): del 25 al 30 %; y las Proteínas miofibrilares (de las cuales, 54 % miosina y 27 % actina).

Dentro de las proteínas del tejido conjuntivo del músculo, el colágeno es el constituyente principal y es la proteína más importante. El colágeno contiene un 33 % de glicina (Gly), 12 % de prolina (Pro), 11 % de alanina (Ala) y 10 % de histidina (His) cuanto más abunden estos aminoácidos, más rígido y resistente es el

colágeno. Es deficiente en aminoácidos indispensables, principalmente lisina y triptófano; las fibras de colágeno comienzan a encoger alrededor de los 64 °C con una desnaturalización completa alrededor de los 70 °C. (Aberle y Forrest, 2001). Las moléculas de colágeno se agrupan de manera específica y ordenada para formar fibras que son los componentes de la membrana protectora del músculo (epimisio, perimisio y endomisio). El colágeno del músculo esquelético presenta variaciones en su composición, estructura y contenido, en función de varios factores (especie, raza, sexo, edad, deficiencia de vitaminas, etc.); es una proteína muy termolábil por la acción de calor experimenta cambios que afectan la calidad de los productos cárnicos.

El tropocolágeno es una hélice triple y compacta de unos 280 nm de longitud y de 1.5 nm de diámetro; con un peso molecular de 285 000, formado por tres cadenas polipeptídicas, con más de 1000 aminoácidos cada una.

Brunton y colaboradores (2006), encontraron marcados cambios en las propiedades dieléctricas de músculo de res (*bíceps femoris*) de las principales proteínas estructurales de la carne, particularmente el colágeno, en el intervalo de temperaturas de 5 °C a 85 °C, los cuales fueron evaluados por calorimetría diferencial de barrido.

La elastina es la segunda proteína del tejido conjuntivo de importancia, se encuentra asociada con el colágeno en pequeñas cantidades en el tejido conectivo. Se trata de una proteína muy resistente, incapaz de embeber agua. Da elasticidad a la carne, y en su patrón de aminoácidos se repiten la alanina, la valina, la isoleucina y la leucina.

El color de la carne es un parámetro que juega un papel importante en la decisión de los consumidores para adquirir la misma, ya que estos asocian el color con la terneza y frescura. En carnes rojas, los consumidores relacionan el color rojo brillante con la frescura, mientras que discrimina la carne que tiene un tono café ya que lo asocian con una carne vieja (O'Sullivan y col., 2003).

El pigmento que confiere el color a la carne es la mioglobina (Mb). Es una proteína sarcoplasmática relativamente pequeña y globular la cual exhibe una afinidad muy elevada por el oxígeno; su función es la de almacenar oxígeno y facilitar su transporte a las mitocondrias. La diferencia entre la Mb y la hemoglobina estriba en que la primera tiene 1 cadena con un grupo hemo por lo que une una molécula de O₂. La hemoglobina tiene 4 cadenas iguales dos a dos (dos α y dos β). Cada cadena es igual a la Mb (grupos hemo unidos a las mismas histidinas), por lo tanto puede unir 4 moléculas de O₂. La cantidad de esta proteína y la proporción de sus tres formas como lo son la desoximioglobina, oximioglobina y metamioglobina son las responsables del color de la carne. Cuando el pigmento se encuentra en la carne como desoximioglobina se percibe un color rojo púrpura, este se encuentra en el interior de la carne, subsiste tras la muerte por la propia actividad del músculo, este color es típicamente asociado con los productos embasados al vacío (Manzini y Hunt, 2005). Al poner la carne en contacto con el aire ocurre una oxigenación del pigmento, esto es caracterizado por el desarrollo de un color rojo cereza o rojo brillante, este es el color deseado por el consumidor. La metamioglobina se puede identificar cuando la carne presenta un color marrón pardo o un tono café, esto ocurre por exposición prolongada al oxígeno. Es una proteína extremadamente compacta y globular, en la que la mayoría de los aminoácidos hidrofóbicos se encuentran en el interior y muchos de los residuos polares expuestos en la superficie. Alrededor del 75 % de la estructura secundaria tiene una conformación de α-hélice; de hecho, existen ocho segmentos de esta en la Mb, designados de la A a la H. Dentro de una cavidad hidrofóbica de la proteína se encuentra el grupo prostético hemo. Esta unidad no polipeptídica se encuentra unida de manera no covalente a la Mb y es esencial para la actividad biológica de unión de O₂ de la proteína. En la Mb no oxigenada, el hierro del Hem (grupo hemo) se encuentra aproximadamente a 0.03 nm fuera del plano del grupo en dirección a la HisF8. La oxigenación de la Mb produce el movimiento del átomo de hierro, ya que el oxígeno ocupa la sexta posición de coordinación del hierro y desplaza el residuo HisF8 0.01nm fuera del plano del Hem. Este movimiento en el anillo Hem produce el cambio conformacional de algunas regiones de la proteína, lo que favorece la

liberación de oxígeno en las células deficientes del mismo oxígeno, en donde éste se requiere para la generación de energía metabólica dependiente de ATP (Fenema, 2010). Existen diferencias en la Mb, la de pavo presenta una mayor termoestabilidad en comparación con la carne de res, en parte debido al mayor pH; la estructura primaria de Mb influye en su estabilidad térmica, estructural y de óxido-reducción. Debido a la estructura primaria de la proteína, su estructura terciaria se ve afectada y es lo que modifica la termoestabilidad (Joseph y col., 2010).

La miosina y actina (proteínas miofibrilares) son las principales proteínas estructurales presentes en la carne, por lo que el efecto que tiene el calor sobre estas influye principalmente sobre la textura resultante en la carne cocida (Brunton, 2006).

En la Figura 2.19. se representa una miofibrilla, compuesta de filamentos paralelos, alternativamente espesos y delgados, de miosina y actina; es la disposición de estos filamentos la que confiere a la miofibrilla su aspecto estriado; en el microscopio se delimitan de forma visible las zonas oscuras (banda A) y claras (banda I).

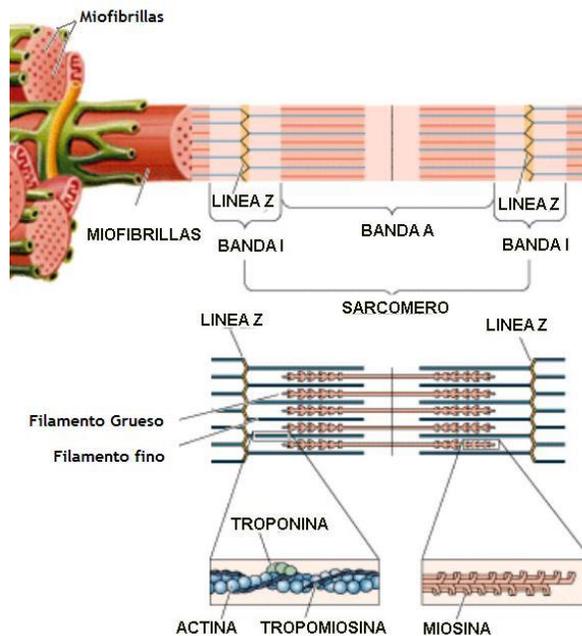


Figura 2.19. Sarcómero y principales proteínas de la carne, en sección transversal. (<http://biol3medio>).

La miosina constituye aproximadamente el 45 % del total de proteínas miofibrilares, y de las proteínas estructurales antes mencionadas es la menos estable al calor, pues se desnaturaliza generalmente en un intervalo de temperatura de 40 a 60 °C (Arrondo y Goñi, 1998; Brunton y col., 2006). Se caracteriza por su gran proporción de aminoácidos, ácidos y básicos, lo que la convierte en una molécula muy cargada (teniendo un pH isoelectrico de 5.4), cuya representación está en la Figura 2.20.

La molécula de miosina, de un peso molecular de unos 500,000 está constituida por dos cadenas proteicas, enrolladas entre sí, que presentan sobre todo hacia una de sus extremidades, varias zonas en α hélice y en la otra extremidad varios grupos -SH; esta parte, la parte más voluminosa de la molécula actúa con la actina. Posee la muy importante característica de una actividad ATPásica (Cheftel, Cheftel y Pierre, 1992).

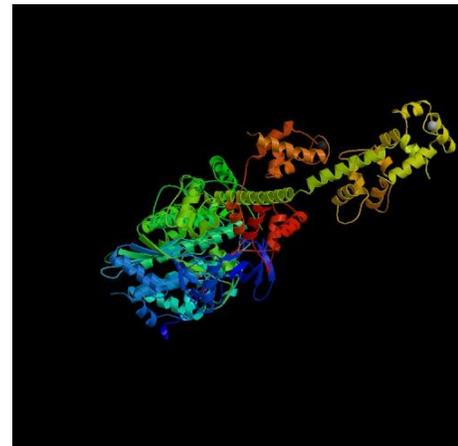
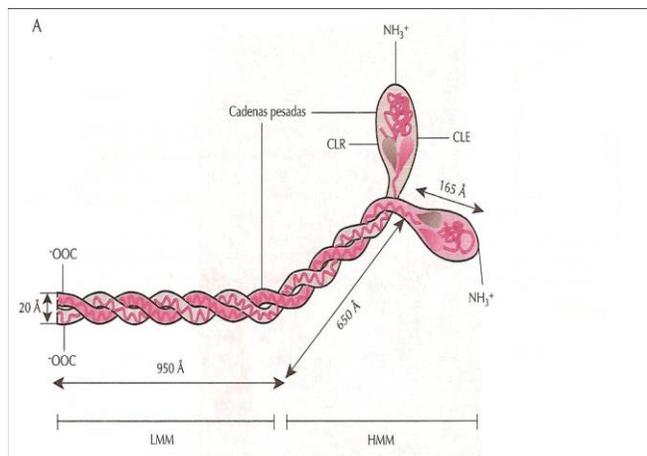


Figura 2.20. Estructura de una molécula de miosina. (Gómez-Moreno y Sancho 2003).

Es una molécula altamente asimétrica. La conforman 6 cadenas polipeptídicas; de tal forma que dos son cadenas pesadas y cuatro son cadenas ligeras, el radio de longitud al diámetro es aproximadamente 100:1. Debido a su alto contenido de ácido glutámico y aspártico y a los aminoácidos dibásicos, es una

molécula altamente cargada y tiene una fuerte afinidad por los iones de calcio y magnesio.

La actina constituye del 20-25 % de las proteínas miofibrilares. Es rica en el prolina (Pro); el cual, gracias a su grupo imino (=N-H), contribuye al plegamiento de las cadenas polipeptídicas, dando lugar a la formación de una molécula globular (esférica) de un diámetro aproximado de 5.5 nm.

Esta molécula globular se denomina actina G (actina globular) y como tal, constituye la forma monomérica (unidad molecular) de la actina. La naturaleza fibrilar del filamento de actina se debe a la polimerización (unión) longitudinal de los monómeros de actina G para formar actina F (actina fibrilar o fibrosa). Dos partes de la actina F se enrollan en espiral una en torno a otra para formar una “super hélice” característica del filamento de actina Su pH isoelectrónico es de aproximadamente 4.7 (Aberle y Forrest, 2001) y se caracteriza por ser la más estable al calor, pues comienza a desnaturalizarse a 71 °C, llegando a ser completa a 83 °C. (Cheftel y col., 1992).

En la Figura 2.21. se destacan los cuatro subdominios, así como los extremos N y C terminal y el lugar de unión a ATP. La molécula está orientada según la convención que se adopta normalmente, quedando en la parte superior el extremo - (punta de flecha) y en la inferior el extremo + (barbado).

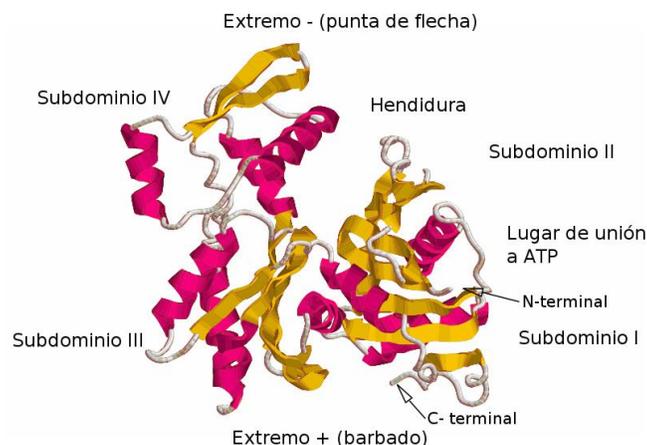


Figura 2.21. Modelo molecular de cintas de actina de músculo esquelético.
(Graceffa y Domínguez, 2003)

La actina, junto con la miosina, interviene en la contracción y relajación de los músculos. Cuando el músculo se convierte en carne, pierde la capacidad de contraerse y relajarse. Sin embargo algunos aspectos de la contracción y relajación muscular in vivo guardan una íntima relación con el acortamiento y disminución del ablandamiento que acaecen en la carne durante los cambios postmortem.

En cuanto al nivel de proteína, Alonso y colaboradores, (2010) evaluaron el efecto de nivel de proteína en la calidad de la carne, la grasa intramuscular y subcutánea, la textura instrumental y atributos sensoriales en *Longissimus dorsi* en animales alimentados con dos dietas experimentales que produjeron animales con diferentes porcentajes de grasa intramuscular, dando como resultado, variaciones en los contenidos de ácidos grasos saturados, poli insaturados y mono saturados con relación directa con la fuerza requerida para el corte como prueba textural, con lo que se comprueba la relación de la composición con la ternura y suavidad de la carne.

II.4.3. El deterioro de la carne.

El deterioro de la carne no siempre es evidente y los consumidores perciben una decoloración, un cambio en olor y el desarrollo de una capa viscosa superficial, con lo cual toman la determinación de rechazar la carne (Nychas y col., 2008).

Las bacterias *Pseudomonas* spp (*Ps. fragi*, *Ps. fluorescens* and *Ps. lundensis*) son, en la mayoría de los casos, responsables del deterioro de la carne almacenada aeróbicamente a diferentes temperaturas (-1 a 25 °C) y son a ellas a las que se les atribuye la formación de olores extraños y o películas viscosas sin olor. Esto se debe a que las *Pseudomonas* han agotado la glucosa y el lactato presente en la carne y comiencen a metabolizar compuestos nitrogenados como aminoácidos.

Las bacterias *Enterobacter* (e.g., *Hafnia alvei*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter agglomerans*) también se producen en carne refrigerada almacenada aeróbicamente, pero no contribuyen al deterioro de la carne, solo son consideradas como indicadores de la inseguridad alimentaria. Estos organismos se han

encontrado en canales de vacuno durante deshuesado, aliñado y la refrigeración, provenientes desde el pelo del ganado, el cuello y la piel de los animales, las paredes de mataderos, las manos de los trabajadores, el aire en la sala enfriamiento, así como las superficies de corte muscular. Las Bacterias ácido lácticas y la *Br. thermosphacta* son de las principales, si no las más importantes, causas del deterioro y putrefacción.

La formación de compuestos después del rigor mortis, se clasifica en 3 substratos principales: (i) compuestos que contribuyen en la ruta glicolítica (por ejemplo, glucógeno, glucosa, glucosa-6-fosfato, lactato, etc.), (ii) metanolitos producidos (por ejemplo, gluconato, gluconato-6-fosfato, piruvato, lactato, etc.) y (iii) el nitrógeno, como fuente de energía (por ejemplo, aminoácidos, proteínas); se ha demostrado que bajo condiciones aerobias aumenta la cantidad de aminoácidos libres y proteínas solubles en agua durante el almacenamiento y esto se relaciona con la elevada cantidad de colonias de microorganismos presentes. Además, el aumento de aminoácidos libres bajo condiciones aerobias es superior a la que se produce bajo envasado en atmosferas modificadas. En otras palabras, el deterioro es el resultado de las condiciones ambientales impuestas y la interacción microbiana. El efecto de la temperatura parece ser el factor de mayor influencia en el deterioro y seguridad de la carne. Se han realizado estudios para evaluar la importancia de la baja temperatura en la manipulación de productos cárnicos, centrándose en el efecto de las fluctuaciones o abusos de temperatura durante la manipulación que modifican la calidad del producto (Koutsoumanis, Taoukis y Nychas, 2005). Cuando la temperatura disminuye, se reduce de forma considerable la velocidad de crecimiento de la mayoría de los microorganismos hasta detenerla, así como de las reacciones enzimáticas, por lo que el alimento prolonga considerablemente su conservación y disminuye su riesgo microbiológico. Se considera que la aplicación del frío sobre la carne propiciará cambios físicos y químicos asociados al deterioro que es percibido por el consumidor y que en forma general, se presentan en el Cuadro 2.5.

El almacenamiento a temperaturas inferiores a su punto de congelación, permite prolongar la vida útil de la carne al reducir los cambios microbiológicos y químicos que le atacarían si se conservara a temperatura ambiente. Sin embargo, estas ventajas son contrarrestadas por la exudación de líquido (“dip” o goteo) que acontece durante su descongelación. Éste líquido está compuesto de proteínas, péptidos, aminoácidos, ácido láctico, purinas, vitaminas del complejo B, diversas sales y otras sustancias hidrosolubles (Vanaclocha, Requena y Abril, 2003).

Cuadro 2. 5. Efecto del frío en carnes.

CARACTERÍSTICAS SENSORIALES A CONSIDERAR: Color, olor, textura (aspecto general y consistencia)			
Cambios	Efecto básico	Efecto detectable	Causas
Físicos	<ul style="list-style-type: none"> • Desecación superficial • Pérdida de peso • Expansión de volumen • Oscurecimiento • Características de fibras musculares • Maduración • Baja capacidad de Retención de agua • Oscurecimiento uniforme de la superficie 	<ul style="list-style-type: none"> • Opacidad, esponjosidad • Tejido quebradizo • Desmenuzamiento de los gránulos de grasa • Color superficial rosado-gris • Aparente pérdida de estructura (estallido celular) • Gusto y olor desagradable • Elevado exudado después de la descongelación • Superficie pegajosa • Inadecuado almacenamiento en frío • Olor característico a infección 	<ul style="list-style-type: none"> • Mecanismos de evaporación de agua • Mecanismos de sublimación del agua • Estructura de los cristales de hielo • Cambios en hemoglobina • Desecación • Método de congelación inadecuado • Fenómeno de recristalización • Fenómenos de autólisis
Químicos	<ul style="list-style-type: none"> • Enranciamiento • Desnaturalización de proteínas • Putrefacción 	<ul style="list-style-type: none"> • Sabor desagradable • Olor picante (amoniacal) • Modificaciones de color • Trastornos de viscosidad y consistencia (reseca, fibrosa) 	<ul style="list-style-type: none"> • Oxidación de ácidos grasos • Mecanismos de sublimación del agua • Acción enzimática • Congelación de producto alterado • Almacenamiento prolongado
CAUSAS TÉCNICAS GENERALES: Selección inadecuada del método de congelación, envase inadecuado, almacenamiento prolongado, deficiente regulación y control de temperatura y humedad relativa del almacén, entre otras.			

Respecto a la pérdida de minerales debido a procesos de congelación se asume que se pierden en jugos exudados debido a daños estructurales a la célula. Ji y Takahashi (2006), estudiaron los cambios en la concentración de calcio en varios

cortes de carne postmortem, incluyendo la de cerdo; y se evidenció que la concentración de calcio libre en el sarcoplasma es regulado directamente por el retículo endoplásmico a 100 nM para la relajación a 5 μ M para la contracción del musculo esquelético.

En general, el agua congelable en el músculo aumenta rápidamente al principio a medida que la temperatura se reduce por debajo del punto de congelación, para posteriormente irse congelando más lenta y escasamente hasta llegar a una asíntota de alrededor del 98.2 % aproximadamente a -20 °C.

Algunos estudios muestran que el agua no congelada aumenta a medida que aumenta el contenido graso de los músculos, también han demostrado que la velocidad a la que desciende la temperatura es un parámetro de mayor importancia. Estudios sobre cerdo han mostrado gran deformación y destrucción de fibras después de la congelación en túnel, inmersión en líquido criogénico y congelación tradicional en comparación con carne de cerdo no congelada (Martino y col., 1998; Molina-García y col., 2004 y Zhu y col., 2004).

Si un alimento congelado se descongela, aunque sea parcialmente, o uno refrigerado deja de estarlo e incrementa su temperatura, aunque sea durante unos minutos, su entorno se vuelve más favorable y, por lo tanto, la actividad microbiana se reanuda. Si volvemos a reducir la temperatura, la actividad volverá a inhibirse pero la población de microorganismos será mucho mayor que antes del aumento de temperatura. Una nueva descongelación las volverá a activar. Cuanto mayor sea el número de microorganismos, mayor es la probabilidad de que el alimento se deteriore o de que éstos constituyan una población suficiente para provocar una toxiinfección alimentaria. Una rápida caída del pH produce una acelerada glicólisis anaeróbica combinada con una elevada temperatura de la canal; esto da como resultado una desnaturalización de aproximadamente el 20 % de las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares (la combinación crítica de valores de pH inferiores a 6.0 con temperaturas superiores a 38 °C). Estos cambios moleculares se aprecian macroscópicamente por una pérdida de la capacidad de retención de agua del músculo y mayor palidez (Zhou, Xu y Liu, 2010).

Se han reportado estudios relacionados con la Mb y la congelación; como el de Suman y colaboradores (2009) que congelaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, muestras de corazón de cabras para determinar la secuencia de aminoácidos de la Mb. Se indica que existe diferencia en esta proteína con respecto otros pequeños rumiantes como las ovejas, y ciervos ya que se tiene en su estructura 12 His, mientras que en ganado bovino res, búfalo, 13 His. La posición de los aminoácidos para la oxidación de Mb es importante, la His 152 encontrada en ganado bovino es remplazada por glutamina (Glu) en cabras y ovejas, lo que indica la baja susceptibilidad a la oxidación inducida en éstos últimos; Chan, Omana y Betti (2011) estudiaron el efecto de 3 niveles de pH y la congelación en pechugas de pavo y tiempo de almacenamiento, se determinó color, pH, capacidad de retención de agua, calcio, actividad de enzimas sarcoplásmicas, proteína total y soluble, modificación en grupos sulfhidrilos, contenido de carbonilos e hidrofobicidad de la superficie de las proteínas. Ascolese y Graziano (2008), establecen que la desnaturalización de proteínas globulares, como la miosina, es el resultado de la pérdida de agua de las estructuras proteicas, por la concentración de solutos y/o por el cambio de pH.

Schmidt y Won (2009) establecen que la pérdida superficial de humedad y la degradación asociada en color, pérdida de textura y sabor de alimentos durante el almacenamiento congelado, producen una superficie deshidratada opaca que es conocida como quemaduras por frío; sin embargo hay otros factores que influyen como son: el tipo, la calidad y la integridad de los materiales de envasados; los métodos utilizados, por ejemplo el envasado al vacío; el gradiente de temperatura de almacenamiento, la humedad relativa de almacenamiento y la circulación de aire al interior del congelador. Faustman y colaboradores (2010) citan que la oxidación de la Mb y la oxidación de lípidos de carne propician la decoloración y un mal sabor, respectivamente. Estos procesos a menudo parecen estar vinculados ya que la oxidación de uno de estos lleva a la formación de especies químicas que pueden agravar la oxidación del otro, se establece que la oxidación de la Mb, entre otras causas se debe a las altas temperaturas pero también reportan que en cerdo almacenado se tienen cambios durante el almacenamiento a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Para evaluar cambios de color debido a la aplicación de procesos de conservación, Fernández- Martín y colaboradores (2000) aplicaron altas presiones -bajas temperaturas en carne vacuna, encontrando que después aplicar varias combinaciones de tratamientos, el color era similar al de carne fresca; Farouk y Swan (1998) utilizaron un colorímetro para lograr simular los cambios de color y químicos y durante el almacenamiento de carne congelada; Luciano y colaboradores (2009) se enfocaron a estudiar el efecto de la dieta de los cerdos en la estabilidad del color de la carne picada cocida y almacenada. Otros autores como Abril y colaboradores (2000); Farouk y Swan (1998), Turhan y colaboradores (2006) estudiaron el efecto de ciclos de congelación y descongelación en el contenido de Mb; el enfoque se basó en cuantificar los daños al final de la congelación, en descongelación y almacenamiento. La evaluación del color en carne sometida a diferentes tratamientos ha sido evaluada también por García-Esteban y colaboradores (2003); Brad, Frandsen y Rosenvold (2011).

Pai, (2003) estudió la pérdida de vitaminas en diferentes productos de origen animal, entre ellas la carne de cerdo, combinando congelación y descongelación y con monitoreo por 6 meses a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$; los resultados mostraron que hay pérdida de Piridoxina, niacina y ácido pantoténico, así como pérdida de vitaminas del complejo B (Tiamina, Riboflavina). Se encontró mayor pérdida de vitaminas cuando se descongela la carne de forma inapropiada (oscilando entre 1 al 10 %). No se vieron afectados los contenidos de ácido nicotínico. Además, se encontró que en un almacenamiento corto a temperaturas de refrigeración, no se pierden vitaminas.

Ji y Takahashi, (2006) determinaron que la pérdida de minerales debido a procesos de congelación se da en los jugos exudados debido a daños estructurales a la célula.

Existe un aumento de enzimas en jugo después de la congelación-descongelación debido al daño en los compartimientos celulares, encontrándose enzimas que se localizan principalmente en las mitocondrias y los lisosomas. Chen, Yang y Guo (1988) encontraron cambios en lactato amino transferasa (LDH), lactato

transaminasa (GOT) etc., en carne almacenada a -18 °C de 0 a 90 días; Toldra y colaboradores (1990) encontraron diferencias significativas en actividad enzimática de lipasa estereasa; en α y β glucoconidasa en carne congelada de -10 a -60 °C sin efecto del almacenamiento, así como en jugos obtenidos bajo presión después de un proceso de congelación y descongelación.

En 1963, Love y Eherian (Lawrie, 1998) demostraron que el daño que sufrían las proteínas del músculo de pescado aumentaba progresivamente a medida que la temperatura se reducía a -183 °C, debido a que más agua estructural congelaba irreversiblemente fuera de las células. El daño que suelen sufrir las proteínas durante la congelación depende del tiempo y la temperatura. Además, la alta fuerza iónica desnaturaliza algunas proteínas musculares, ocasionándose la llamada pérdida de retención de agua de las proteínas musculares y la incapacidad de las fibras de reabsorberla, lo que se traduce como pérdida por exudado.

Existe también una pérdida en capacidad de retención de agua y aumento en pérdidas por goteo en muestras descongeladas; en carne de cerdo fresca se mostró que la pérdida de goteo es 3.7 ± 2.2 % del peso inicial frente a 13.5 ± 2.3 % para muestras almacenadas en aire a temperatura de congelación por 17 días. Bertram y colaboradores (2006) en un estudio realizado en carne de cerdo mediante relaxometría NMR y calorimetría diferencial de barrido (DSC), encontraron una correlación entre la desnaturalización de las cadenas de miosina a ~53-58 °C y los cambios inducidos térmicamente en el agua miofibrilar, así como entre la desnaturalización de la actina a ~80-82 °C y la expulsión de agua de la carne. Las evaluaciones de los cambios en proteínas evaluadas por calorimetría son revisadas con mayor profundidad en subcapítulo II.5.

Las fluctuaciones de la temperatura y el almacenamiento en congelación inducen alteraciones físicas diferentes que dan como resultado cambios de color debido a modificaciones en el entorno de hemoglobina (Vekilov y col., 2002). También se altera la capacidad para enlazar el agua y la distribución de agua durante la congelación. Estos cambios pueden detectarse mediante diversas

técnicas espectroscópicas como resonancia magnética nuclear (NMR), espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR) y lejano (FIR).

Se han investigado los efectos de las fluctuaciones de temperatura mostrándose mayor deterioro en tejido ya sea con aumento o disminución de la temperatura durante el almacenamiento congelado, en comparación con el almacenado a temperatura constante de -20 °C (Martino y col., 1998).

Muestras almacenadas a -18 °C en cámara de convección forzada por 26 semanas presentaron resultados similares, excepto por una ligera compactación de fibras musculares en la última semana. Las muestras congeladas en nitrógeno líquido y posteriormente almacenado a -18 °C se deterioraron progresivamente mostrando una compactación de fibras y cavidades profundas durante el mismo periodo de almacenamiento, lo que hace suponer una contradicción con la idea por efecto de la velocidad de congelación, -congelación rápida cristales de hielo pequeños-, con un mayor daño que congelación lenta. Se concluye que las condiciones de congelación y descongelación tienen un gran impacto sobre el grado de deterioro de la microestructura y se necesitan más investigaciones y con equipos alternativos para establecer la relación apropiada.

II.5. Técnicas instrumentales para la determinación de efectos de congelación.

II.5.1. Parámetros termo físicos del proceso de congelación de la carne.

Las propiedades termofísicas de la carne dependen de diferentes variables propias de su composición y estructura, además, algunas de ellas son altamente dependientes de la temperatura, especialmente en la zona donde se produce el cambio de fase del agua durante la congelación. A medida que la temperatura desciende por debajo del punto inicial de congelación, parte de agua en estado líquido se reduce, convirtiéndose en cristales de hielo, este cambio hace que se

modifiquen las propiedades de los alimentos congelados (Chavalier, Le y Ghoul, 2000a, Chavalier Le y Ghoul, 2000b, Delgado y Sun y Xing, 1999). Estos cambios se deben a las diferencias en las propiedades termofísicas del agua cuando se encuentra en su fase líquida y en su fase sólida.

- La temperatura inicial de congelación de la carne es inferior a la del agua pura, debido a que en el agua de la carne se encuentran diluidos componentes menores como: carbohidratos, sodio, potasio, fósforo, calcio, magnesio, entre otros, que reducen su punto de congelación (Mannapperuma y Singh, 1989). Se hace referencia a una temperatura inicial de congelación porque el fenómeno de cambio de estado del agua en los alimentos se presenta en un intervalo de temperaturas, provocado por el aumento en la concentración de los solutos a medida que el agua cambia de la fase líquida a la sólida (Franke, 2000). Los valores de la temperatura inicial de congelación se han obtenido en forma experimental y utilizando herramientas estadísticas se derivan expresiones empíricas que relacionan su valor con alguno de sus componentes: en la mayoría de los casos la cantidad de agua. Chen, 1987, Murakami y colaboradores, 1996; Rahman, 1994, Van de Sman y Boer, 2005 utilizaban el contenido de humedad como único parámetro para predecir la temperatura donde se inicia la congelación; (Pham, 1994) incluyó en la expresión otros componentes, como el porcentaje de carbohidratos y de cenizas presentes en la muestra, obteniendo una mejor precisión en la representación de los datos.

Chang y Tao (1981), describen que la temperatura inicial de congelación está en función de su contenido de agua y del tipo de alimento del que se trate, predice todos los puntos de congelación iniciales publicados con anterioridad dentro de márgenes de error aceptable, como es en el caso de la carne:

$$T_f = 271.18 + 1.47\phi \quad (47)$$

Donde:

ϕ = contenido de humedad, en base húmeda [%]

Chen (1987) menciona que la temperatura más elevada a la cual ocurre la congelación es difícil de determinar exactamente, pero que el método que se ha desarrollado en base a la entalpía, y que el punto inicial de congelación aproximado se obtiene evaluando el punto de inflexión de la gráfica entalpía-temperatura resultante de un análisis calorimétrico.

- La conductividad térmica es otra de las propiedades que determinan el comportamiento termo físico de las carnes, y es difícil determinar en un material congelado, debido a que la conductividad térmica del hielo es 4 veces mayor que la del agua, también por que al llegar al punto inicial de congelación existe un elevado incremento que coincide con las etapas de nucleación y crecimiento de cristales.

Para medir esta propiedad existen métodos en estado transitorio y en estado estable. El método de las placas calientes donde se mide la variación de la temperatura en un punto conocido de la muestra. Tocci y colaboradores (1997), presentan las ecuaciones de Pham y Willix (1989), tanto para carne analizada en dos direcciones de fibras como función al contenido de agua congelable y no congelable:

$$k_{f\parallel} = (0.060 + 0.52W) - 0.0057(T - T_{cr}) + (-0.446 + 1.62W) \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_{cr}} \right) \quad (48)$$

$$k_{u\parallel} = (0.060 + 0.52W) - 0.0009(T - T_{cr}) \quad (49)$$

Donde:

$k_{f\parallel}$ = conductividad térmica de carne congelada con fibras en paralelo

$k_{u\parallel}$ = conductividad térmica de carne no congelada con fibras en paralelo

T_{cr} = Temperatura inicial de congelación [°C]

T = Temperatura en un punto dado

W = contenido de humedad

Para flujo de calor perpendicular a las fibras:

$$k_{f\perp} = 0.92 k_{f\parallel}$$

$$k_{u\perp} = 0.92 k_{f\parallel} \quad (50)$$

Los modelos matemáticos propuestos para predecir la conductividad térmica de la carne, además de considerar la composición, toman en cuenta su variación con respecto a la temperatura y la temperatura inicial de congelación. Sin embargo, es necesario incluir la temperatura donde finaliza el cambio de fase de los líquidos que hacen parte del material debido a que en este intervalo de temperaturas las propiedades termofísicas son afectadas por el cambio de fase del agua.

- La difusividad térmica relaciona tres propiedades: la conductividad térmica, el calor específico y la densidad. Es afectada por el contenido de humedad, su temperatura, composición y porosidad, sin embargo los cambios más importantes se generan por la transición de fase durante la congelación, en este caso, la difusividad deberá reflejar la transformación del agua en hielo y, deberá tomar en cuenta que la eliminación de calor latente y sensible que sucede en un amplio intervalo de temperaturas. Después del punto inicial de congelación, hay una reducción como resultado de la contribución del calor latente. Para la difusividad térmica los métodos usados son similares a los utilizados para determinar la conductividad térmica en estado transitorio, los cuales parten de resolver la ecuación de transferencia de calor por conducción (Jaramillo-Flores y Hernández-Sánchez, 2000; Carciofi y col., 2002). Los modelos para el estudio de esta propiedad son escasos, normalmente se estudia la conductividad térmica y luego se obtiene la difusividad a partir ella.

- La capacidad calorífica se define como la cantidad de energía que debe añadirse a un kg de una sustancia para aumentar su temperatura 1°C a presión constante. Las consideraciones más importantes de esta propiedad son las

contribuciones energéticas debidas al cambio de fase, además de la contribución de las fracciones de los diferentes componentes que no cambian de estado, dando como resultado un C_p específico aparente que contará tanto para la fase no congelada como para la congelada que cede cada una calor sensible y latente.

Schwartzberg (1978) presenta la siguiente ecuación para el cálculo del C_p en 2 intervalos de temperatura para carne:

$$\begin{aligned}
 C_p &= C_{p_0} + [W - b(1 - W)] \left[C_{p_i} - C_{p_w} - \frac{\lambda T_{cr}}{T^2} \right] & T < T_{cr} \\
 C_{p_T} &=> C_{p_0} & T \geq T_{cr}
 \end{aligned} \tag{51}$$

Donde:

C_{p_0} = capacidad calorífica de alimento no congelado [kJ/kg]

C_{p_i} = capacidad calorífica del hielo

C_{p_w} = capacidad calorífica del agua líquida

W = contenido de humedad [%]

b = contenido de agua ligada (en carne $b= 0.2444$)

λ = calor latente de fusión

T_{cr} = temperatura inicial de congelación

II.5.2. Calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC).

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es una técnica de análisis térmico que consiste en proporcionar un flujo de calor, a velocidad constante, a la muestra y a un material de referencia de composición conocida, en el intervalo de temperaturas en que se van a efectuar las determinaciones. Es aplicable a una gran variedad de materiales, tal como polímeros, farmacéuticos, alimentos y compuestos orgánicos, debido a que proporciona información cualitativa y cuantitativa como una función del tiempo y la temperatura, con respecto a transiciones que involucran procesos

endotérmicos (absorción de calor) y exotérmicos (liberación de calor), o cambios en la capacidad calorífica (Verdonck, Schaap y Thomas, 1999).

El MDSC, difiere del DSC convencional, en que la muestra es sometida a un programa de calentamiento más complejo que incorpora una modulación sinusoidal de la temperatura, acompañada de una rampa de calentamiento fundamentalmente lineal (T. A. Instruments, 2000). La señal resultante de flujo de calor es sometida a un análisis a través de un procedimiento matemático que permite separar la respuesta a la perturbación, de la repuesta al programa de calentamiento. Mientras en el DSC solamente se obtiene el flujo total de calor, los experimentos con el MDSC proporcionan, además del flujo total de calor, las componentes no reversible (cinética) y reversible (relacionada con la capacidad calorífica). La representación matemática de lo anterior es:

$$\frac{dQ}{dt} = C_p \left(\frac{dT}{dt} \right) + f(t, T) \quad (52)$$

Donde:

dQ/dt = flujo de calor en la muestra,

C_p = capacidad calorífica de la muestra debido a su movimiento molecular (vibracional, rotacional y de translación),

dT/dt = velocidad de calentamiento,

$f(t,T)$ = flujo de calor originado como consecuencia de un evento impedido cinéticamente.

Esta ecuación muestra que el flujo total de calor en el DSC comprende a dos componentes: la dependiente de la velocidad de calentamiento. $C_p \left(\frac{dT}{dt} \right)$ y la dependiente de la temperatura absoluta $f(t,T)$.

El MDSC tiene la habilidad única de medir la capacidad calorífica bajo condiciones cuasi-isotérmicas, por ejemplo isotermas con pequeñas modulaciones de temperatura. En esta clase de experimentos la velocidad de calentamiento de la línea base es esencialmente cero. Sin embargo, debido a la selección de una amplitud y periodo de modulación de temperatura, el material está aún expuesto a un incremento instantáneo de la velocidad de calentamiento, permitiendo la medición isotérmica de la capacidad calorífica. Adicionalmente a lo anterior, pueden eliminarse los efectos dependientes del tiempo en las mediciones del C_p , permitiendo una evaluación más real de la dependencia que tiene el C_p con respecto a la temperatura durante una transición.

Generalmente las mediciones realizadas utilizando velocidades de calentamiento de la línea base entre 1 y 5 °C/min pueden mostrar resultados similares; sin embargo por la evolución de eventos dependientes del tiempo tal como la transición vítrea u otras transiciones de segundo orden (desnaturalización de proteínas), los resultados obtenidos varían ligeramente entre calentamiento y enfriamiento (T. A. Instruments, 2000).

Recientemente, el enfoque de aplicación de la calorimetría se ha ampliado, autores como (Kasapis, 2010) utilizando técnicas termo gravimétricas, de espectroscopia y de MDSC para definir la relación que guarda la T_g con la porosidad de una matriz porosa, similar a la carne, estableciendo que éstas técnicas responden de forma diferente a la movilidad molecular; (Diéguez y col., 2010) utilizaron DSC en emulsiones de carne para determinar el C_p y la k que varían con respecto a la composición química, su porosidad y la estructura de proteínas y grasa presente; Guizani y colaboradores (2010), determinaron el efecto plastificante del agua en los sólidos y la disminución de transición vítrea en función al contenido de sólidos, a partir de la temperatura inicial de congelación y la temperatura de transición vítrea.

Biliaderis (1983), Burton y colaboradores (2006), Bertram y colaboradores (2006) y Vidacek y colaboradores (2008) determinaron que la desnaturalización de proteínas de la carne de cerdo y res por calorimetría, ubica tres endotermas de

transición a 54, 65 y 77 °C, correspondientes a la desnaturalización de miosina, proteínas sarcoplásmicas-colágeno y la actina respectivamente, resultados corroborados en NMR por Xia y colaboradores (2009). Murphy, Marks y Marcy (1998), encontraron las mismas endotermas de en pechuga de pollo y pavo.

El calor específico de la carne, debe ser determinado a temperaturas inferiores a la temperatura de congelación como a temperaturas superiores a ella, y debido a los cambios que provoca el paso del agua de su fase líquida a la fase sólida. En este sentido, Bertram y colaboradores (2006) concluyen que las características del agua contenida en muestras de carne de cerdo durante la cocción en un estudio comparativo de NMR y DSC presentan mayores cambios en el intervalo en que ocurre la desnaturalización de la miosina y actina, resaltando que en esta última influye la expulsión de agua de la carne por efecto del proceso de calentamiento.

Estudios realizados anteriormente Meléndez (2011) muestran las ventajas en la realización de experimentos por MDSC en el estudio de los efectos que tienen procesos térmicos sobre carne de cerdo sin embargo, los resultados obtenidos están influidos fuertemente por la velocidad de calentamiento y, por tanto, muchas de las transiciones o cambios que se están produciendo por efecto de una modificación de los componentes del material en estudio tienden a ser omitidos debido a que prevalecen solo aquellas transiciones de mayor cambio energético (fusión y cristalización del agua).

Murphy y colaboradores (1998), al igual que en el caso de la determinación de C_p , consideran que el método más apropiado para determinar los requerimientos energéticos es la aplicación de la Calorimetría Diferencial de Barrido. Zoubeir y Scott, (1996) determinan la entalpía total como la suma de la entalpía de los distintos componentes (agua, sólidos, hielo). Zhu, Mendonca y Ahn (2004), al realizar la congelación a alta presión, determinaron que para la determinación de la entalpía no era necesario utilizar el calorímetro a alta presión ya que no encontraron diferencia significativa al comparar los resultados obtenidos contra un Calorímetro Diferencial.

El hombre se descubre cuando se mide con un obstáculo.

Antoine de Saint-Exupéry

III: METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

III. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

III.1. HIPÓTESIS, OBJETIVO GENERAL Y PARTICULARES.

Hipótesis:

El acomodo de cristales en congelación y el reacomodo de los mismos en recongelación, se define como una sucesión de estados de equilibrio dependientes del tiempo con repercusiones en los requerimientos energéticos y en atributos de calidad y está directamente relacionada con cambios estructurales de proteínas y de comportamiento de variables térmicas como el Cp y Entalpía requerida.

Objetivo General:

Evaluar el efecto de la velocidad de formación de cristales de agua en cortes de cerdo (*Longissimus dorsi*), mediante el análisis del comportamiento de variables térmicas y estructurales y el efecto de formación de escarcha superficial por fluctuación de temperaturas.

Objetivos Particulares:

- 1- Evaluar los parámetros termodinámicos en la congelación y recongelación, contrastando el proceso en condiciones no isotérmicas y cuasi-isotérmicas.
- 2- Determinar los cambios enzimáticos y de composición asociados al proceso de congelación a dos velocidades y el efecto de la recongelación para establecer los daños causados en la carne.
- 3- Establecer el efecto de la congelación y la formación superficial de escarcha durante la congelación, para determinar cambios macro y micro estructurales.

El trabajo experimental se realizó en el laboratorio No. 13, de Propiedades Térmicas y Estructurales de Materiales y Alimentos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM.

Para cubrir el objetivo general y contrastar la hipótesis planteada, las actividades experimentales se dividieron conforme a los objetivos que son presentados en las Figuras 3.22., 3.23. y 3.24.

III. 2. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

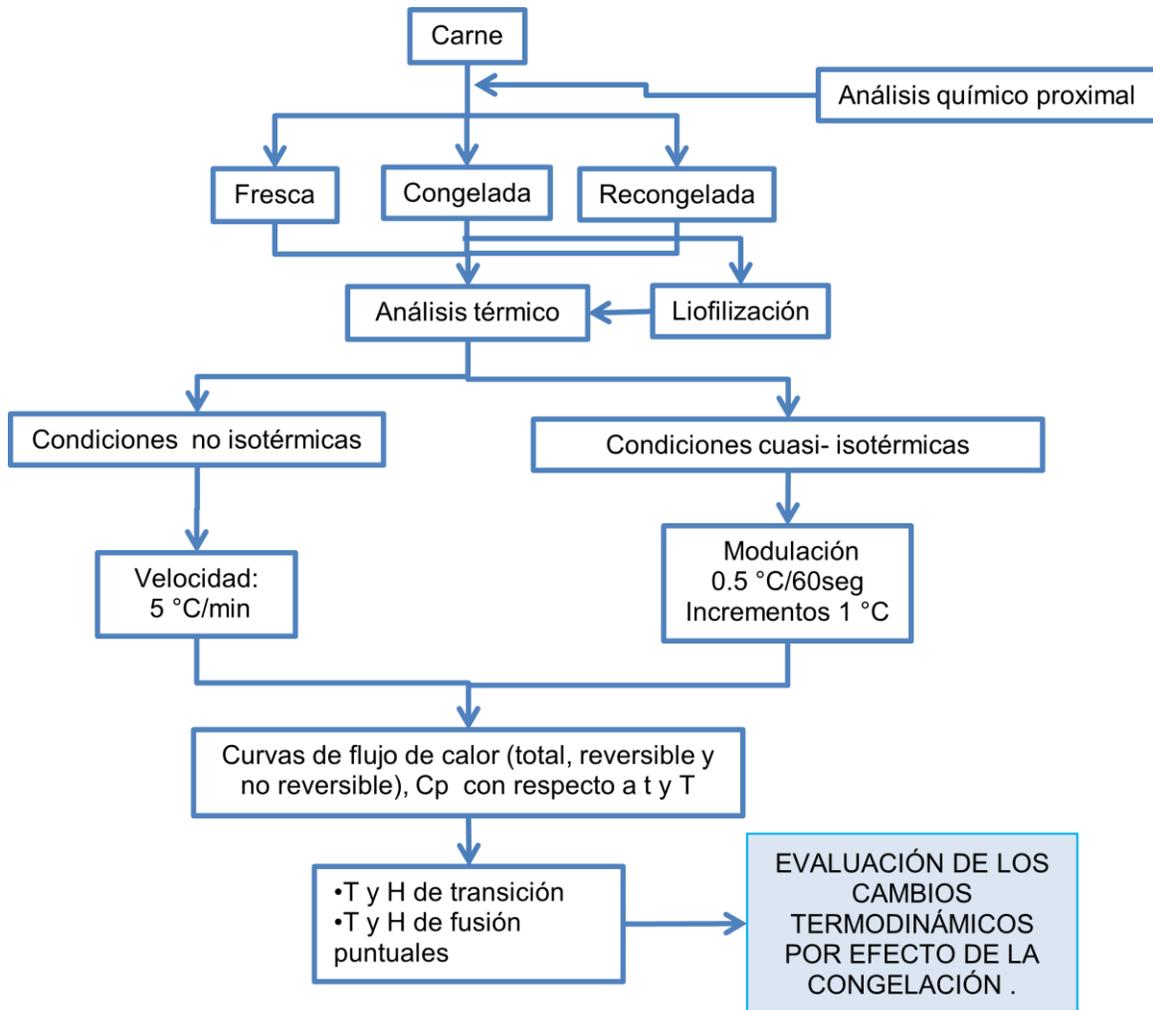


Figura 3.22. Desarrollo experimental del objetivo particular 1.

- ❖ Unidad experimental: Rebanadas de lomo de cerdo de 1 cm de espesor.
- ❖ Tratamientos: Fresca, Congelada y Recongelada y Liofilizados.
- ❖ Factor experimental: Condición no isotérmica y cuasi isotérmica.
- ❖ Variables de respuesta: Cambios termodinámicos (T y H de transición, Cambios de Cp).

Técnicas estadísticas:

- ❖ Medidas de tendencia central y de dispersión.
- ❖ ANOVA de 1 y dos vías.
- ❖ Pruebas de contrastación de Tukey.
- ❖ Regresión lineal simple.

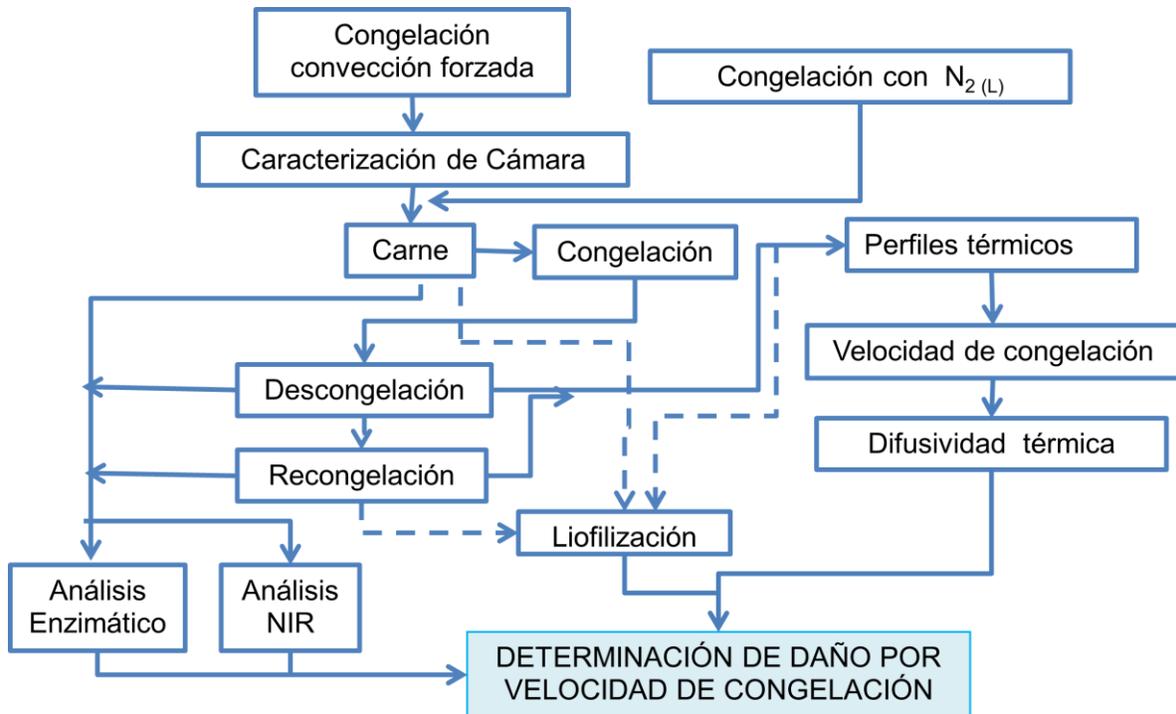


Figura 3.23. Desarrollo experimental del objetivo particular 2.

- ❖ Unidad experimental: Rebanadas de lomo de cerdo de 1 cm de espesor.
- ❖ Tratamientos: Fresca, Congelada y Recongelada y Liofilizados.
- ❖ Factor experimental: Congelación por convección forzada y Congelación por contacto indirecto.
- ❖ Variables de respuesta: Perfiles térmicos, Cambios enzimáticos y NIR.

Técnicas estadísticas:

- ❖ Medidas de tendencia central y de dispersión.
- ❖ ANOVA de 1 y dos vías.
- ❖ Pruebas de contrastación de Tukey.
- ❖ Regresión lineal simple.

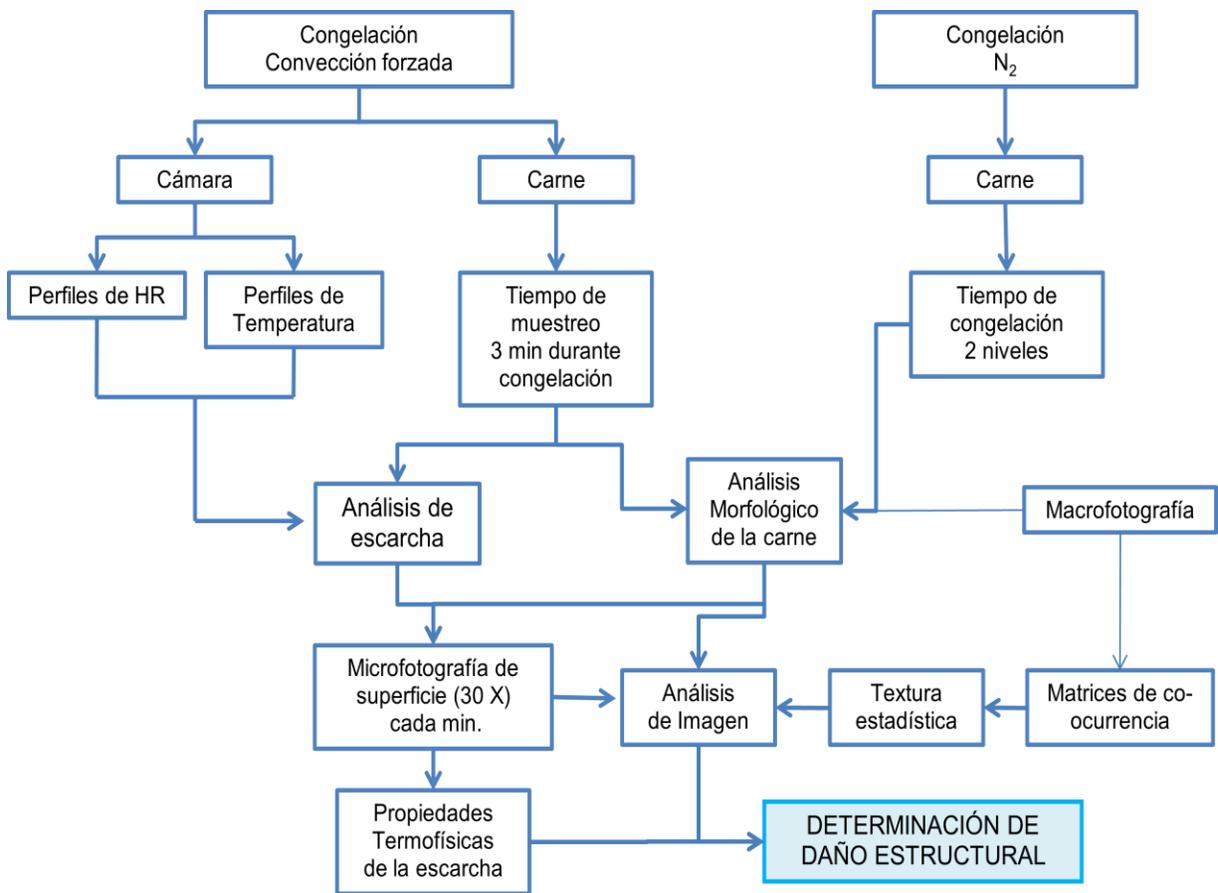


Figura 3.24. Desarrollo experimental del objetivo particular 3.

- ❖ Unidad experimental: Rebanadas de lomo de cerdo de 1 cm de espesor.
- ❖ Tratamientos: Fresca, Congelada y Recongelada y Liofilizados.
- ❖ Factor experimental: Congelación por convección forzada y Congelación por contacto indirecto.
- ❖ Variables de respuesta: Daño estructural, Morfología y comportamiento de escarcha superficial.

Técnicas estadísticas:

- ❖ Medidas de tendencia central y de dispersión
- ❖ ANOVA de 1 y dos vías
- ❖ Pruebas de contrastación de Tukey
- ❖ Regresión lineal simple

La descripción de las actividades por objetivo se presenta a continuación:

III.2.1. ACTIVIDADES PRELIMINARES.

III.2.1.1. Parámetros de control de materia prima.

Como la composición de la carne se relacionan directamente con la funcionalidad de los componentes, y al ser un sistema complejo por su contenido de diversas proteínas, ácidos grasos, etc., se consideró conveniente mantener como constantes del estudio: la raza, edad, sexo, tipo de matanza y tiempo posmortem. Se utilizó carne fresca obtenida 48 h después de la matanza de cerdos raza Duroc-Jersey, macho castrado de 6 meses de edad con peso aproximado de 110 kg. El corte sobre el que se realizó el estudio fue *Longissimus dorsi*, parte del cerdo característico por su limpieza lipídica con peso promedio de 3.7 kg, que era obtenida de un mismo proveedor para garantizar que los cambios en los análisis fueran provocados por el efecto de los tratamientos y no por otras variables.

A las muestras se les realizaron pruebas iniciales de:

- ❖ % de Humedad-Técnica Dean and Stark AOAC 1422. (AOAC, 1990) (Anexo 2).
- ❖ Cantidad de proteína por el método de Bradford o Método con azul de Coomassie G-250 (Anexo 3).
- ❖ Determinación de pigmentos cárnicos (mioglobina) con técnica de Hornsey (1956) (Anexo 4).
- ❖ Actividad de agua (A_w), mediante uso de Aqualab Pawkit (marca Decagon Devices).
- ❖ pH, con medidor de profundidad para carne HI 99163 Hanna Instruments, Romania, calibrado con buffers de 7.000 y 4.005 a 25 °C.
- ❖ Color, con colorímetro Minolta CR-300 (en espacio de color $L^* a^* b^*$ y HSB) y calibración con placa de cerámica blanca.

Las determinaciones de pH, % de humedad, A_w , cantidad de proteína, y pigmentos se realizaron por quintuplicado en cada uno de los tres lotes analizados y

se determinaron las medidas de tendencia central y de dispersión utilizando el programa Minitab 14.

Para determinar el color se tomaron lecturas en el centro de 4 zonas, según lo aplicado por Sawyer y colaboradores (2007), (Figura 3.25.) en 5 muestras diferentes para un total de 20 resultados a los cuales se les determinaron las medidas de tendencia central y de dispersión.

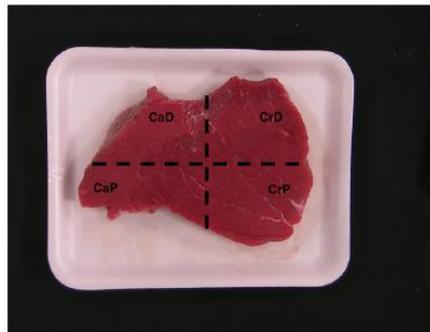


Figura 3.25. Zonas de trabajo para control de color de materia prima.

III.2.1.2. Validación de termopares.

Se trabajó con 5 termopares de cobre-constantan tipo T, inmersos en agua destilada, evaluando linealidad, precisión y exactitud, empleando para ello, parrilla eléctrica, vaso de precipitados y un banco de adquisición de temperaturas (Stanford Research System modelo SR630, Sunnyvale, CA). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Linealidad: Se colocaron 1000 mL de agua destilada en un vaso de precipitados, y se calentó en la parrilla hasta temperatura de ebullición (92.8°C en Cuautitlán Izcalli), con lecturas de temperatura cada minuto. Se determinó la ecuación de regresión y el coeficiente de determinación R^2 .

Precisión: Se tomaron lecturas de temperatura cada minuto hasta completar 5 mediciones en agua en ebullición; se consideró como criterio de evaluación en coeficiente de variación (CV), que indica la capacidad para reproducir cierta lectura.

Exactitud: Se consideró la temperatura de ebullición alcanzada en la prueba de precisión. La prueba estadística de contrastación fue prueba de hipótesis con $\alpha=5\%$, e indica la desviación que se obtiene con la lectura de un parámetro respecto a un valor medio ideal o real.

Corrección de termopares.

Una vez que se efectuaron las pruebas se seleccionó al termopar patrón, que es el que presentó mayor cantidad de criterios estadísticos. Se aplicó un análisis de linealidad para correlacionar de forma directa la respuesta de un conjunto de termopares, con respecto a la respuesta del termopar patrón.

La ecuación obtenida para cada termopar, presentó la siguiente forma lineal:

$$T_c = T_p = a T_{Tn} + B \quad (53)$$

Donde:

$T_c = T$ corresponde a la temperatura del termopar patrón.

a = factor de proporcionalidad.

T_{Tn} = temperatura n obtenida por otro termo par sin corregir.

B = ordenada al origen de cada relación obtenida.

III.2.1.3. Liofilización de muestras de carne.

El proceso de liofilización se llevó a cabo en dos etapas: inicialmente las muestras fueron colocadas en contenedores plásticos en Ultracongelador REVCO con temperatura interna de la cámara $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un tiempo aproximado de 24 horas. La segunda etapa se realizó en un equipo LABCONCO modelo Freezone 4.5, con una temperatura del colector de $-49\text{ }^{\circ}\text{C}$, a un vacío de 0.035 mBar y un tiempo aproximado de 23 a 24 horas.

III.2.1.4. Caracterización de Cámara de Congelación.

En esta actividad, se utilizó una cámara de congelación de convección forzada Tor Rey modelo CV, México, de 14 ft³ de capacidad (Figura 3. 26.), con gas refrigerante R-404^a con deshielo automático por resistencia que representa la velocidad de congelación baja.



Figura 3.26. Cámara de congelación de convección forzada.

Se determinó la velocidad del aire por triplicado en la parte central de 16 zonas, (4 secciones por cada charola) con Termoanemómetro Extech Instruments. Se determinó el coeficiente convectivo a partir de los números adimensionales Reynolds, Prandtl y Nusselt:

$$h = \frac{\text{Nu}Kt}{D}$$
$$\text{Nu} = \frac{hD}{k} = c(\text{Re})^n \quad (54)$$

Donde

$h = \text{Nu} K / D$ (W/ m² K)

L = Longitud de la muestra de carne (m)

V = velocidad del aire

ρ = densidad del aire 1.4241 kg/m³

μ = viscosidad del aire 1.56 x10⁻² N/m²

K = Conductividad del aire 0.02219 W/mK

C_p = capacidad calorífica del aire 1.01 x 10³ KJ/kgK

Las propiedades del aire antes mencionadas corresponden a la temperatura de $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

III.2.1.5. Adaptación de la cámara de congelación por nitrógeno.

La cámara de congelación criogénica, es un Dewar Nalgene, USA de capacidad 20 lt (Figura 3.27. a) alimentada en forma intermitente con Nitrógeno líquido. Para la congelación y recongelación por contacto indirecto, se colocó una placa de acero inoxidable de 15 cm de diámetro perforada en cuatro puntos (Figura 3.27. b), que estaba en contacto con el nitrógeno; las muestras de carne eran colocadas en la parte superior de ella. En la Figura 3. 27. c, se presenta la colocación de los termopares.

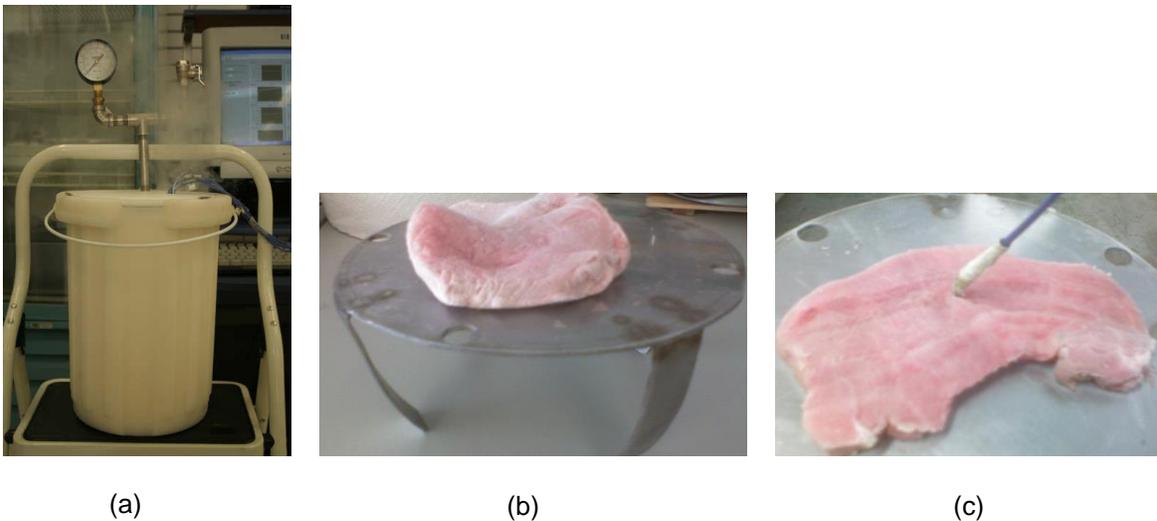


Figura 3.27. Fotografía de cámara de congelación por $\text{N}_2(\text{L})$.

Este sistema de enfriamiento aprovecha las características del calor latente de vaporización de 198.38 kJ/kg , con un punto de ebullición a 1 atm de $-195.8\text{ }^{\circ}\text{C}$; a estas condiciones presenta una densidad del gas de 4.614 kg/m^3 y una conductividad térmica de 24 mW/mK . (Abello Linde, 2002).

III.2.2.OBJETIVO PARTICULAR 1

III.2.2.1. Determinación de parámetros termodinámicos durante la congelación en condiciones no isotérmicas.

El análisis térmico se realizó en calorímetro diferencial de barrido modulado (MDSC) de TA Instruments modelo 2920 en carne fresca, congelada y recongelada, con sistema de enfriamiento por nitrógeno.

El peso aproximado de cada muestra en la charola hermética de aluminio (TA Instruments) era de 25 ± 1 mg; se aseguró que la muestra hiciera contacto completo con el fondo de la charola. Posteriormente se selló con una prensa para encapsulado.

Las condiciones de modulación con isothermas de 10 min, las constantes de celda y C_p experimentales para el análisis no isotérmico son las reportadas en el Cuadro 3. 6.

Cuadro 3.6. Condiciones experimentales para análisis no isotérmico.

Velocidad de calentamiento (°C/min)	Modulación	Constante de celda	Constante de C_p
5	0.80 °C/60 s	1.0538	1.1806

Para el análisis de la congelación a partir de la fusión, las condiciones fueron a velocidad de enfriamiento y calentamiento a 5 °C/min, con rampas de 20 a -50 °C y de -20 a 20 °C; para la carne congelada y recongelada en calentamiento se trabajó de -40 a 200 °C.

Las respuestas analizadas fueron:

- ❖ Flujo de calor Modulado vs. Derivada de la T modulada. (gráfico de Lissajous), que permitió verificar un correcto control de las condiciones experimentales.
- ❖ Flujo de calor total vs. T, para observar el número de transiciones a lo largo del experimento y determinar la entalpía de transición.
- ❖ Flujo de calor Reversible y Cp reversible vs. T, para determinar los cambios de Cp y en especial durante las transiciones.
- ❖ Flujo de calor no reversible vs. T, para la evaluación de cambios por efectos cinéticos.

Bajo estas condiciones se determinó el intervalo de temperatura a utilizar en el análisis cuasi-isotérmico, donde se observaron las transiciones de las principales proteínas de la carne.

III.2.2.2. Análisis térmico de carne bajo condiciones cuasi-isotérmicas.

En una primera etapa se sometieron a análisis muestras de ± 25 mg de carne de cerdo en estado fresco, congelado y recongelado. Los tratamientos térmicos se realizaron en una cámara de congelación Tor Rey con un tiempo de descongelación de 24 h. Muestras con los mismos tratamientos fueron liofilizadas y analizadas con adición de 1.9 μ l de agua.

Las tres muestras de cada uno de los tratamientos (sin y liofilizada) fueron sometidas a un equilibrio inicial a 50 °C y un posterior análisis a una modulación de ± 0.5 °C/min con incrementos de 1 °C y tiempos de equilibrio y almacenamiento de datos de 5min; con lo anterior se tuvieron corridas experimentales de aproximadamente 350 min. Todas las corridas se hicieron por triplicado, con la finalidad de garantizar repetibilidad de los resultados.

Se obtuvieron comportamientos del flujo de calor y $C_{p_{reversible}}$, identificando zonas de transición, así como las temperaturas y cambios de C_p . En el caso de la carne liofilizada se determinaron las derivadas de las dos señales con respecto a la temperatura y tiempo, con la finalidad de mejorar la interpretación termodinámica de los cambios observados en las dos primeras señales.

En una segunda etapa se realizó la corrección de línea base para hacer uso de las herramientas e interpretaciones de las señales del proceso de deconvolución completa, como lo son el flujo de calor de fase y C_p fuera de fase.

Las siguientes fueron las condiciones para el calentamiento en cada muestra:

- 1) Data Storage: OFF
- 2) Equilibrate at 50 °C
- 3) Modulate ± 0.50 °C every 100 seconds
- 4) Isothermal for 5 min.
- 5) Data Storage: ON
- 6) Isothermal for 5 min.
- 7) Data Storage: OFF
- 8) Increment 1 °C
- 9) Repeat segment 4 for 30 times.

III.2.3. OBJETIVO PARTICULAR 2.

Se realizó la caracterización de ambos métodos de congelación y se estableció la velocidad de congelación a partir de perfiles térmicos, para la determinación de la difusividad térmica y los tiempos de congelación. Se realizó el análisis morfológico y de imagen, y cambios enzimáticos tanto a la carne fresca como a la congelada y recongelada. En el caso del análisis durante la congelación se variaron los tiempos de muestreo para ver la influencia de ellos sobre el daño causado a la carne. Finalmente se aplicarán las técnicas requeridas para la evaluación de la cristalización, recristalización y efectos asociados al corte de carne.

III.2.3.1. Determinación de perfiles de temperatura.

Para determinar el perfil de congelación se realizó el seguimiento de la temperatura con equipo de monitoreo NI-ENET-G213 y driver software NI-DAQMX, con adquisición de datos en HP Pavillion Slimline, utilizando termopares previamente validados.

a) Determinación de velocidad de congelación.

Los cortes de carne tenían un espesor de 2 cm y un peso aproximado de 30 gr. Estos eran colocados con orientación de fibras en forma paralela al flujo de eliminación de calor. Para controlar la movilidad de los termopares en la cámara de congelación, se construyó un contenedor de muestras de 7x3x2 cm, que se presenta en la Figura 3.28.

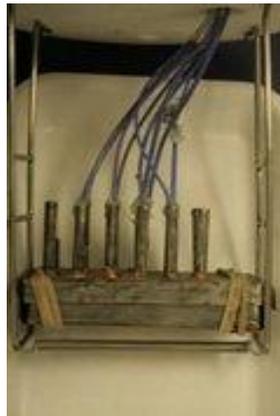


Figura 3.28. Colocación de termopares para determinación de difusividad térmica.

Se determinó el tiempo total de congelación, considerándose desde el inicio del enfriamiento, hasta el tiempo transcurrido para alcanzar la temperatura de congelación. La velocidad de congelación se determinó con la siguiente ecuación propuesta por Añon y Calvelo (1980):

$$V_{lc} = \frac{T_i - T_f}{\theta} \quad (55)$$

Donde:

V_{lc} = velocidad local de congelación ($^{\circ}\text{C}/\text{h}$)

T_i = temperatura inicial del proceso de congelación ($^{\circ}\text{C}$)

T_f = temperatura final de congelación establecida a -10 ($^{\circ}\text{C}$)

θ = tiempo desde temperatura inicial, hasta temperatura final.

Así mismo se determinó la razón de cambio con respecto al tiempo como la pendiente de la derivada de la temperatura con respecto al tiempo.

b) Determinación de difusividad térmica.

En la etapa de enfriamiento y subenfriamiento se determinó la difusividad térmica por el Método de Diferencias Finitas, ya que es un método que permite la resolución aproximada de ecuaciones diferenciales definidas en muestras finitas y aproxima la función en cada nodo por su desarrollo en serie de Taylor. En este análisis se seleccionaron las condiciones de Dirichlet, útiles para establecer simetrías y simular recintos con campo uniforme en sus contornos.

Se supuso que el nodo (i, j) satisfacía la condición de Neumann, tal y como se ve en Figura 3.29. Dicha condición, estableció un eje de simetría con respecto al eje X.

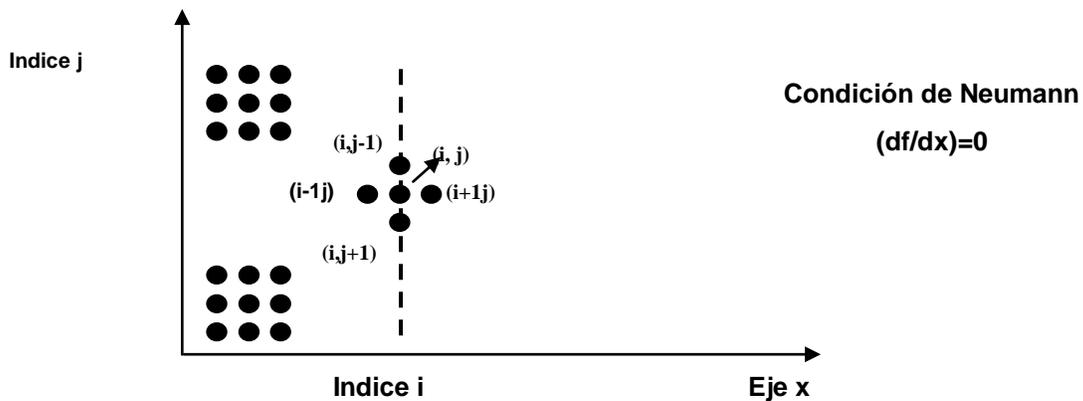


Figura 3.29. Malla $M \times N$ con condiciones de Dirichlet.

Las ecuaciones de diferencias finitas en una sola dirección para determinar el valor de difusividad térmica se reducen a:

$$\frac{\Delta T}{\Delta t} = \alpha \left(\frac{\Delta^2 t}{\Delta x^2} + \frac{\Delta^2 t}{\Delta y^2} \right) \quad (56)$$

$$\alpha = \frac{\frac{T_1^{i+1} - T_1^i}{t_{i+1} - t_i}}{\frac{T_2 + T_3 - 2T_1}{\Delta x^2}} \quad (57)$$

Donde:

T= temperatura en cada punto nodal

t= tiempo

α = Difusividad térmica (m²/s)

x= posición

Una vez obtenida la difusividad térmica en las dos velocidades de congelación, los resultados fueron analizados mediante regresión lineal simple y comparada las pendientes por prueba de hipótesis.

III.2.3.2. Cambios Enzimáticos.

Cada una de las pruebas se realizó por quintuplicado y se determinaron las medidas de tendencia central y de dispersión en cada caso.

a) Mioglobina.

Los cambios en mioglobina, se evaluaron según técnica de Hornsey (1956), la cual consiste en su extracción a partir de 5 g de muestra en acetona ácida (20 ml acetona, 0.5 ml de HCl al 35 % y 1 ml de H₂O destilada) en refrigeración durante 24 h. Las muestras eran filtradas y a los sobrenadantes se les determinó la absorbancia

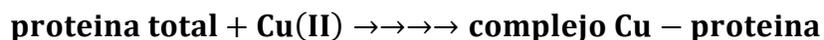
a 512 y 640 nm en espectrofotómetro Life Science UV/ Vis, modelo DU 530, Beckman Coulter. La concentración de pigmentos se determinó por la siguiente fórmula para $\lambda = 512$ nm:

$$\text{Pigmentos hemo} = \frac{25 \text{ ml ext} \times 10^{-3} \times 1 \times 625 \# \text{ g hematina} \times 10^{-6} \mu\text{g}}{9.25 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1} \times 1 \text{ c} \times 1 \text{ ml} \times 1 \text{ mol} \times 1 \text{ g} \times 5 \text{ g musc}} \text{ DO} \quad (58)$$

Esta concentración de pigmentos se correlacionó con resultados de color tanto en congelación en cámara como en recongelación con tiempo de muestreo de 3 minutos. Considerando el coeficiente de extinción molar de hematina acida a 512, el peso molecular de la hematina ácida (652 uma) y la densidad óptica u absorbancia (DO).

b) Proteína total.

El método de proteínas totales es una modificación de la reacción de Biuret. Los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con el ión cúprico, en medio alcalino, para dar un complejo color violeta con máximo de absorción a 540 nm, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en la muestra. Basado en la siguiente reacción:



Se utilizó un Kit de Wiener Laboratorios S.A.I.C que contiene: a) reactivo EDTA/Cu (complejo EDTA/Cu 13 mmol/l en NaOH 875 mmol/l y alquil aril poliéter); reactivo BCF (solución de 3,3',5,5'-tetrabromo cresolsulfon ftaleína) y un suero patrón (solución de albúmina y globulinas en estado nativo).

Se controló tanto la temperatura de incubación (37 °C) como el tiempo de la misma (15 min). La lectura se realizó en espectrofotómetro Life Science UV/ Vis, modelo DU 530, Beckman Coulter, a Longitud de onda: 540 nm con filtro verde (520-560 nm), llevando a cero con el blanco de reactivo.

$$\text{Proteínas Totales (g/dl)} = D \times f$$

$$f = \frac{P.T.(\frac{g}{dl})}{S} \quad (59)$$

Donde;

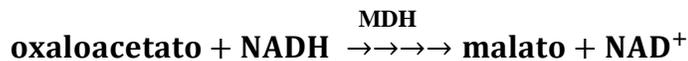
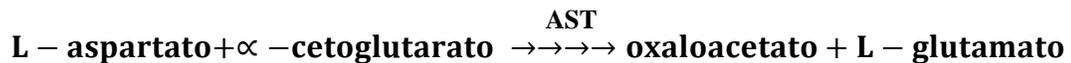
D= muestra desconocida (50 µl de muestra + 3.5 ml de reactivo EDTA/Cu)

S= Standad (50 µl de suero patrón + 3.5 ml de reactivo EDTA/Cu)

c) Actividad de Aspartato aminotransferasa (AST) y Alanin aminotransferasa (ALT).

La determinación de la actividad de Aspartato aminotransferasa (AST o GOT); Transaminasa glutámico-oxalacética) y Alanin aminotransferasa (ALT ó GPT) y Transaminasa glutámico-pirúvica) de Wiener Laboratorios S.A.I.C se realizó por método colorimétrico.

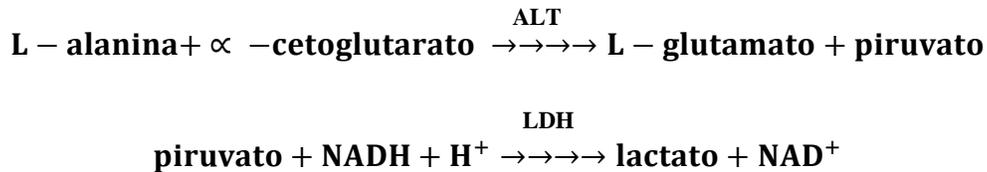
La AST cataliza la reacción del L-aspartato y α-cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato es convertido en malato y el NADH es oxidado a NAD⁺ por el catalizador MDH. Basado en las siguientes reacciones:



El cambio en el índice de absorbancia a 340 nm /405 nm debido a la conversión de NADH a NAD⁺ es directamente proporcional a la cantidad de AST contenida en la muestra.

La ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α-cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa

cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, la NADH se oxida a NAD⁺, como se observa la siguiente reacción.



El índice de cambio de la diferencia de absorbancia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH en NAD⁺ y es directamente proporcional a la cantidad de ALT en la muestra.

Se controló la temperatura de incubación (en baño de agua a 37 °C durante 5 min); se agitó la solución y se incubó durante 30 min. Se leyó la absorbancia en espectrofotómetro a 505 nm o Hg 546 y el cálculo de los resultados se realizó teniendo como base las tablas que se presentan en ANEXO 2.

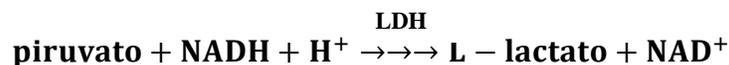
Los resultados pueden ser expresados en U/l o en las antiguas unidades del método (Karmen o Wroblecky), bajo las siguientes equivalencias:

$$\text{U/l} = \text{UKarmen/ml (o Wroblecky/ml)} \times 0.482 \quad (60)$$

$$\text{UKarmen/ml (o Wroblecky/ml)} = \text{U/l} \times 2.07 \quad (61)$$

d) Actividad de Lactato deshidrogenasa (LDH)

Esta enzima corresponde a la categoría de las oxidoreductasas, en la que el piruvato es reducido a lactato por la oxidación de NADH a NAD⁺. Basado en la siguiente reacción:



Se trabajó a 37 °C, adicionándose 3 ml de sustrato; se pre incubó y se agregaron 50 µl de muestra. Se determinó la absorbancia inicial luego a los 1, 2 y 3 minutos de la primera lectura. Se determinó la diferencia promedio de absorbancia/min ($\Delta A/\text{min}$), restando cada lectura de la anterior y promediando los valores,

$$\text{LDH (U/l)} = \Delta A/\text{min} \times \text{factor} \quad (62)$$

En cada caso se empleó el factor de cálculo correspondiente a la temperatura de 37 °C y 340 nm igual a 9.683.

III.2.3.4. Efecto de congelación por infrarrojo cercano.

Se cortaron trozos de carne que pudieran ser fácilmente insertados en una celda giratoria del espectrofotómetro NIR, marca Unity Scientific. Debido a que el análisis por éste tipo de equipos no es destructivo los trozos de carne de cerdo pudieron ser analizados íntegramente de forma fresca, congelada (en refrigeración doméstica a una temperatura de -10 °C y por 24 h) y recongeladas (mismas condiciones que la congelación pero con una descongelación de 24hr). Para el caso de los análisis de la carne congelada y recongelada, ambas muestras fueron previamente descongeladas 12 h antes del análisis. Se realizó un barrido de 1200 a 2400 nm y se obtuvo un espectro para cada una de las muestras analizadas. Cada prueba se realizó por triplicado y para su análisis se obtuvo el promedio de las señales obtenidas en un gráfico de Abs vs λ . Este estudio permitió ubicar los intervalos de longitud de onda a los cuales se presentan los cambios que fueron relacionados a lo observado por MDSC, en especial las zonas reportadas para los enlaces de puentes de hidrógeno.

III.2.4. OBJETIVO PARTICULAR 3.

Este último objetivo se enfocó al establecimiento del efecto de las dos velocidades de congelación sobre la formación superficial de escarcha para determinar cambios macro y micro estructurales.

III.2.4.1. Efecto de fluctuación de temperatura en la congelación con convección forzada.

En el apartado III.2.1.1. correspondiente a parámetros de control de materia prima, se describió como se determinaba el color. En el caso del análisis del efecto de la congelación, el lomo de cerdo fue seccionado en 33 rebanadas de 1 cm de espesor. Como muestra control se utilizó una rebanada de carne a 23 °C (fresca). Las muestras fueron congeladas sin envasar (Anderson, 2007) a una temperatura de $-25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. El registro de la temperatura durante la congelación fue en el centro térmico de una rebanada de carne. Al mismo tiempo se midió la temperatura del ambiente interno de la cámara. Durante el proceso de congelación las rebanadas de carne fueron muestreadas al inicio del enfriamiento (5 y 0 °C); así como también a -2 °C (inicio de la congelación o PIC). A partir de la temperatura de -2 °C, los muestreos se realizaron cada 3 min hasta llegar a la temperatura de subenfriamiento (-10 °C). Las condiciones del medio ambiente en donde se realizaron los experimentos también fueron monitoreadas.

Como las determinaciones de color y la toma fotográfica no son pruebas destructivas, la misma muestra era utilizada para el análisis morfológico.

a) Color.

La determinación de color de los cortes de carne se realizaron con colorímetro Minolta CR 300, en 5 diferentes puntos de muestreo, los datos obtenidos se registraron en coordenadas L^* , a^* b^* . Las diferencias de color fueron determinadas mediante las siguientes ecuaciones:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (63)$$

$$\Delta H^* = [(\Delta E^*_{ab})^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2] = [(\Delta a^*) + (\Delta b^*) - (\Delta C^*)^2]^{1/2} \quad (64)$$

Donde:

ΔE = Diferencia o cambio de color.

ΔH =Diferencia de matiz.

ΔC = (L*1- L*2) Claridad o croma.

t* = Valores del color de referencia.

b) Brillo y reflectancia o luminancia.

Para la toma fotográfica se utilizó una cámara Canon EOS XT DSLR (Digital System Lents Réflex, sistema digital de lente réflex), objetivo (macro 50 mm AF). Se seleccionó una velocidad de obturación de 2 "; con valor de apertura (diafragma) de 16; potencia del flash 1/32 a 60° eje x, y; incidencia del flash del 20 % e ISO de 100/21. Así mismo se utilizó un trípode, fotómetro digital, flash de mano, lente polarizador, cable disparador, rebotador, computadora, software Adobe PhotoShop y banco óptico.

Las imágenes tomadas presentaron las siguientes características: 3.456 x 2.304 píxeles por lado, que da un total de 7 962 624 píxeles, resolución de 72 píxeles por pulgada (ppp), compresión JPEG en modo de color RGB, con profundidad de color de 8 bits por canal. Se determinó la cantidad de reflectancia de cada muestra, y se analizó en la fotografía digital el brillo emitido por los cristales, y el color en los modos HSB y Lab. En ambos modelos se descartaron los parámetros inherentes al color; H y S en el caso del modo HSB y L, a* y b* en Lab.

El brillo y la luminosidad o reflectancia se determinarán digitalmente con el software Adobe Photoshop CS3, el proceso fue el siguiente: se abría la imagen original, se dividía en cuatro sectores iguales y se buscaban las áreas más homogéneas en los medios tonos (tonos intermedios que están entre los de luz y los de sombras, del 25 % más claro al 75 % más oscuro) de cada una, omitiendo las

áreas de luz y de sombra. El área seleccionada de fue de aproximadamente 150 px de diámetro, que era marcada con un trazo geométrico, se hizo un acercamiento sobre esa superficie y dentro de ésta se volvió a realizar un análisis visual para detectar una parte igualmente homogénea de aproximadamente 10 px de diámetro, posteriormente se eligió un píxel marcándolo con un trazo cuadrado y se tomaron los valores del panel info (información) en los modos de color HSB, y Lab y se repite el procedimiento con los tres sectores restantes y con todas las imágenes de la (s) corridas. Como se ejemplifica en la Figura 3.30.

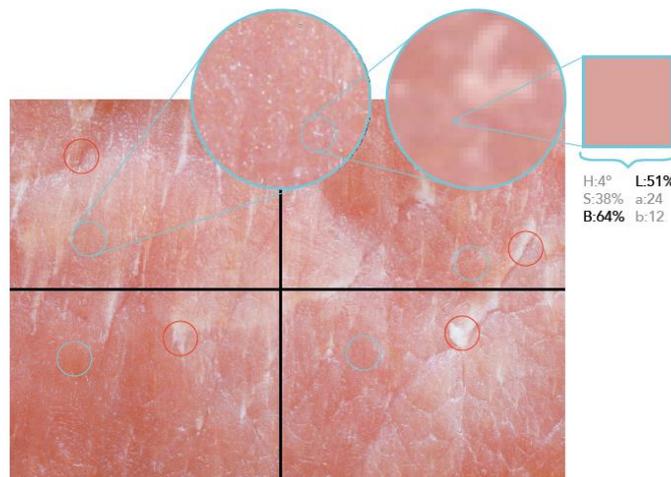


Figura 3.30. Medición de Brillo y Luminosidad.

Posteriormente se tomaba lectura de la reflectancia de cuatro áreas diferentes de la muestra, con ayuda del fotómetro digital, configurado en el modo de 'lectura de spot de luz reflejada'.

III.2.4.2. Análisis morfológico.

De cada rebanada o muestra se cortaban dos submuestras de 1 cm³, una de ellas con dirección de fibras longitudinal y otra en dirección perpendicular o transversal a las fibras. Este procedimiento se realizó por duplicado para tener una confiabilidad en los resultados obtenidos en el análisis histológico en el Laboratorio de apoyo a Histología y Biología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México.

La preparación de los cortes de la carne se realizó por el Método de Inclusión de Rutina en Parafina a temperatura entre 55 - 60 °C en Paraffin Dispenser (Thermolyne Sybron Corporation #10073). Los cortes se llevaron a cabo con micrótopo (Leica RM2125RT), a un tamaño de 4 μm de espesor. Se trabajó con un microscopio óptico Axioskop 40 CARL ZEISS y se adaptó al microscopio una cámara Sony modelo SSC-DC54A que cuenta con el programa (Studio 9 Quick Start) encargado de enfocar, captar y guardar la imagen. La resolución de la fotografía fue de 40 X. Se tomaron 3 fotografías en cada condición de muestreo. Las imágenes fueron evaluadas con el analizador Image-Pro Express versión 4, para determinación del área y longitud en eje máximo de 5 daños.

a) Congelación en cámara de convección forzada.

Para observar el efecto de las fluctuaciones de temperatura (por apertura y cierre de puerta por toma de muestras), se realizaron gráficos promedio y de comportamiento de los coeficientes de variación (CV) durante corridas de congelación.

En el análisis de daño, las áreas determinadas fueron analizadas estadísticamente para obtener las medidas de tendencia central y dispersión y para estimar la diferencia entre áreas medidas en las microfotografías, se realizaron análisis de varianza para cada condición de muestreo. Se determinaron los intervalos de confianza al 95 % para las medias, medianas y desviación estándar, aplicando la prueba de Tukey (95 %) correspondiente. Se analizaron los gráficos de los valores residuales para normalidad, el histograma y la comparación entre residuales.

Se realizaron los ajustes correspondientes eliminando los valores atípicos, se determinó la mejora del comportamiento en el aumento de área de daño en función al tiempo. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el programa estadístico MINITAB 15 (Minitab Inc., State College, Pennsylvania, US).

b) Congelación por contacto indirecto en Nitrógeno líquido.

La congelación se realizó a dos tiempos de contacto indirecto diferentes, 20 y 30 min, y se siguió el mismo procedimiento para el análisis histológico explicado en el punto anterior.

El análisis estadístico consistió en la comparación de las medias de los dos tratamientos.

III.2.4.3. Comportamiento de la formación-fusión de escarcha de hielo sobre carne congelada.

a) Congelación en cámara de convección forzada.

El lomo de cerdo fue seccionado en 33 rebanadas de 1 cm de espesor. Como muestra control se utilizó una rebanada de carne a 23 °C (fresca). Las muestras fueron congeladas sin envasar (Anderson, 2007) en el congelador por convección forzada a una temperatura de $-25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$. Un termopar fue colocado en el centro geométrico de una rebanada de carne. Se realizó la medición de la HR y la temperatura dentro de la cámara de congelación con higrómetro Oakton, RH/TempLog, modelo QC6 (Israel) con un tiempo de espera de 10 minutos para estabilización de lectura. Así mismo se determinó la temperatura y HR ambiente.

Los perfiles de temperatura fueron obtenidos de los datos registrados cada 30 segundos.

Durante el proceso de congelación las rebanadas de carne fueron muestreadas al inicio del enfriamiento (5 y 0 °C); así como también a -2 °C (inicio de la congelación). A partir de la temperatura de -2 °C, los muestreos se realizaron cada 10 min hasta llegar a la temperatura de subenfriamiento (-10 °C). Las condiciones del medio ambiente en donde se realizaron los experimentos también fueron monitoreadas, registrándose una humedad relativa así como la temperatura ambiente y del interior de la cámara, dichas condiciones permitieron el intercambio

másico y térmico en cada apertura de la puerta del congelador durante la toma de la muestra. Esto ocasionó la formación de escarcha en la superficie de las rebanadas de carne.

Se utilizó el programa Photoshop CS5 Extended para determinar el espesor de la escarcha (10 determinaciones), para lo cual se sobreponían las imágenes inicial y final (después de la fusión), como se muestra en la Figura 3.31.

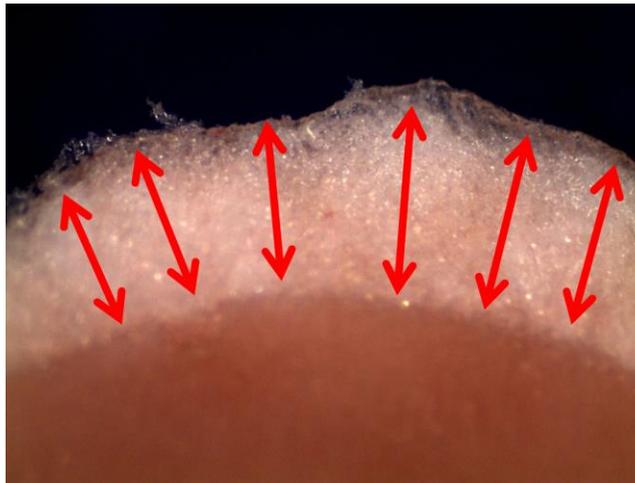


Figura 3.31. Sobre posición de imágenes para determinación de espesor de escarcha para congelación en cámara de convección forzada.

b) Congelación por contacto indirecto en Nitrógeno líquido.

Se determinaron los tiempos de congelación y los perfiles térmicos de la carne por contacto indirecto en N_2 líquido ($N_{2(L)}$).

Para evaluar el efecto del tiempo de congelación y las variables higrométricas, se realizaron cortes de carne de 0.5 cm de espesor, los cuales fueron medidos, pesados y expuestos a las condiciones ambiente; se determinó la temperatura superficial con termómetro infrarrojo Cole Parmer (800) 323-4340 y se observaron en estéreo microscopio Leica EZ4D a 35 X. La carne se congeló por contacto indirecto con $N_{2(L)}$ a 2 diferentes tiempos (30 y 60 min), posteriormente, ésta

se almacenó en una cámara de congelación por convección forzada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, para evaluar el efecto del periodo de estabilización de temperatura, en el espesor y tiempo de fusión de escarcha superficial. De igual manera se determinaron los parámetros termodinámicos de la escarcha como son: densidad, conductividad térmica y porosidad, aplicando ecuaciones de predicción que son presentadas en el Cuadro 3.7. Donde: T = temperatura [K], T_f = temperatura de la escarcha [K], $b_1 = 0.709721$ y $b_2 = 0.228726$.

Cuadro. 3.7. Ecuaciones de predicción de las propiedades termofísicas de la escarcha.

Propiedad Termofísica	Unidades	Ecuación	Autor y año	No. ecuación
Densidad de cristales en sublimación	(kg/m^3)	$\rho_c = (-10429.56) + 41.57 T$	(Sahin, 2000)	(65)
Densidad del hielo	(kg/m^3)	$\rho_i = \frac{1}{1.0907E^{-03} + 1.4635E^{-07}T}$	(Gatica y col., 2009)	(66)
Densidad de la escarcha	(kg/m^3):	$\rho_f = 650^{0.227(T_f - 273.15)}$	(Kim y col., 2009)	(67)
Conductividad térmica de escarcha	(W/mK)	$k_{fc} = 1.202 \times 10^{-3}(\rho_c)^{0.963}$	(Sahin, 2000)	(68)
Conductividad térmica del hielo	($\text{W}/\text{m K}$)	$k_i = \frac{630}{T}$	(Kim y col., 2009)	(69)
Conductividad del hielo	($\text{W}/\text{m K}$)	$k_i = 630T$	(Gatica y col., 2009)	(70)
Porosidad en la escarcha	-	$p_a = 1 - b_1 \exp[b_2(T_f - 273.15)]$	(Kim y col., 2009)	(71)
Coefficiente de difusión de masa	(m^2/s)	$D_{AB} = 1.451E^{-04} \frac{T^{1.72}}{P_{atm}}$	(Gatica y col., 2009)	(72)
Capacidad calorífica del hielo	($\text{J}/\text{kg } ^{\circ}\text{C}$)	$C_{p_i} = 2109 + 3.66(T - 273.15)$	(Gatica y col., 2009)	(73)
Calor latente de sublimación	(J/kg)	$I_{ig} = (-0.047(1.8)(T - 273) + 32) + 1220)2322$	(Gatica y col., 2009)	(74)
Conductividad térmica del aire*	(W/mK)	$k_{air} = (1.0464 + 0.017T) \times 10^{-5}$	(Sahin, 2000)	(75)

Los coeficientes de correlación de la porosidad del aire determinaron (b_1 y b_2) en un intervalo de temperatura entre -20 y 0 °C

En una siguiente etapa los cortes congelados con $N_{2(L)}$ durante 30 minutos se colocaron dentro de la cámara de congelación a -20 °C, a los 15 minutos de estabilización, se realizó la primer apertura de puerta del congelador durante 1 minuto y se cerraba; el estudio se realizó durante 1:30 h.

Se utilizó el programa Photoshop CS5 Extended para determinar el espesor de la escarcha (10 determinaciones), para lo cual se sobreponían las imágenes inicial y final (después de la fusión), como se muestra en la Figura 3.32.

Se determinaron las medidas de tendencia central y de dispersión.

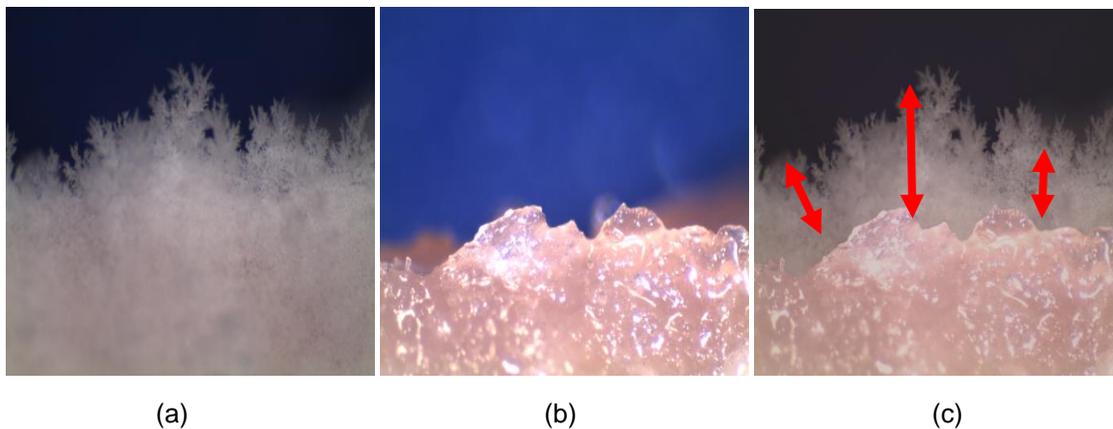


Figura 3.32. Fotografías para análisis de escarcha. a) Escarcha superficial en carne congelada con Nitrógeno líquido. b) Carne descongelada. c) Sobre posición de imágenes para determinación de espesor.

c) Propiedades termofísicas de la escarcha.

Los modelos teóricos y experimentales, empíricos y semiempíricos que consideran los efectos de la temperatura, velocidad y humedad relativa del aire, temperatura superficial del material, sobre espesor de escarcha, se presentan en el Cuadro 7 y fueron retomadas algunas de éstas ecuaciones para estimar los parámetros termofísicos de la escarcha.

III.2.4.4. Análisis de imagen por textura estadística.

La toma de fotografías sometidas a análisis de textura estadística se realizó bajo condiciones lumínicas de 640 lux, tomando en cuenta únicamente la luz ambiental con rebotadores ya que el uso de lámparas de luz continua, fundía los cristales superficiales de las muestras debido al calor emitido por los focos.

Se utilizó una cámara Canon EOS XT DSLR (Digital System Lens Réflex, sistema digital de lente réflex) con Flash Canon 430 EX, lente polarizador y Cable disparador para evitar vibraciones en la cámara y con posición cenital con respecto a la muestra de carne en ángulo de 45 °; objetivo de distancia focal fija (macro 50 mm AF con un factor de ampliación de hasta 1:1). Se midió la luz incidente y reflejada con Fotómetro digital Sekonic L-758 DR. Se construyó un banco óptico para mantener las muestras de carne en una posición paralela con respecto al plano focal, a la misma distancia de enfoque.

Se trabajó con una velocidad de obturación (v) de 2", valor de apertura, diafragma (f) de 16, potencia del flash (pf) 1/32 a 60° eje x, e incidencia del flash (if) 20% y la sensibilidad digital (ISO) de 100/21.

La textura estadística se define como la cuantificación de la variación espacial de valores de tono en una imagen, la cual es imposible definirlo precisamente por su carácter sensorial. En este caso, el análisis de imagen, permitió conocer los daños que carne sufrió en el proceso de congelación antes de su distribución.

La matriz de co-ocurrencia de niveles de gris (GLCM) es una de las técnicas de análisis de textura más utilizada en donde las características de textura es trabajada bajo enfoques estadísticos (p , k , l) (Haralick y col. 1973). Se consideran 2 parámetros, la distancia (d) y la dirección (q) entre pares de píxeles. La dirección puede tener valores entre 0, 45, 90 y 135°; en el caso de la aplicación en alimentos, se ha tomado el valor promedio Gao y Tan, (1996). La distancia depende de la resolución de la textura (Palm, 2004). Majumdar y Jayas, (2000), utilizaron la distancia igual a 1.

La matriz se construyó contando el número de pares de píxeles (x 1, y 1) (x 2, y 2) con el valor de gris (k) y el valor de l en la dirección (q) y la distancia (d) (Zheng y col, 2006). La construcción de la matriz de co-ocurrencia se muestra en el Cuadro 3.8.

Cuadro 3.8. Matriz de co-ocurrencia

0 0 1 1 1 2 1 1 2 0 0 1 1 1 2 2 2 3 3 1 3 0 0 3 3 3 3 2 1 1 1 0 2 2 2 0	Θ= 0° Θ= 45° Θ= 90° Θ= 135° $\begin{bmatrix} 0 & 6 & 5 & 1 \\ 6 & 6 & 3 & 5 \\ 5 & 3 & 4 & 2 \\ 1 & 5 & 2 & 6 \end{bmatrix}$ $\begin{bmatrix} 6 & 3 & 3 & 2 \\ 3 & 10 & 4 & 2 \\ 3 & 4 & 8 & 2 \\ 2 & 2 & 2 & 4 \end{bmatrix}$ $\begin{bmatrix} 0 & 2 & 4 & 3 \\ 2 & 4 & 5 & 4 \\ 4 & 5 & 1 & 1 \\ 3 & 4 & 1 & 2 \end{bmatrix}$ $\begin{bmatrix} 0 & 6 & 4 & 2 \\ 6 & 6 & 1 & 2 \\ 4 & 1 & 4 & 4 \\ 2 & 2 & 4 & 2 \end{bmatrix}$
(a) Valor de gris en pixels de una imagen.	(b) Construcción de matriz de co-ocurrencia de (a) con d=1

Tras la construcción de la matriz de la coexistencia, está fue normalizada con la siguiente función:

$$P(k, l) = \frac{p(k, l)}{R} \quad (76)$$

Donde R es la función de normalización, que se define generalmente como la suma de la matriz.

A partir de matrices de co-ocurrencia se utilizó una biblioteca libre, Opencv (Wikipedia, 2009) para manipular imágenes, desarrollado por Intel y multiplataforma, en versión para Linux. El análisis de textura consideró las matrices de co-ocurrencia con los elementos que se presentan en el Cuadro 9.

Las muestras de carne congelada fueron analizadas en cada una de las condiciones de muestreo y en el caso de congelación en cámara y $N_{2(L)}$ durante la descongelación.

Se realizó la comparación de las medias de los tratamientos de F, CC y RC con un ANOVA.

El análisis estadístico del comportamiento se realizó aplicando series de tiempo, donde la tendencia se representó como una función cuadrática del tiempo o como una curva logística Pearl-Reed (curva en forma de S), determinándose los parámetros MAPE (mean absolute percentage error, error porcentual absoluto medio) y MAD (mean absolute deviation, desviación absoluta media) para realizar la comparación de los ajustes obtenidos.

Cuadro 3.9. Elementos de matriz de co-ocurrencia

Descripción	Ecuación	No.
Segundo momento angular (ASM). Medida de la uniformidad de la imagen; indica la textura.	$ASM = \sum_k \sum_l P^2(k, l)$	(77)
Contraste (CT). Representa las variaciones en escala de grises de un píxel de referencia con respecto a la del vecino.	$CT = \sum_{n=0}^D n^2 \left(\sum_k \sum_l P(k, l) \right)$ $ k - l = n$	(78)
Suma de cuadrados, (SOS). Conocida como varianza y muestra la rugosidad de la imagen.	$[SOS(\hat{\sigma}^2)] = \sum_k \sum_l (k - \hat{l})^2 P(k, l)$ $\hat{l} = \sum_k \sum_l k P(k, l)$	(79)
Correlación (CR), Expresa la dependencia lineal existente en función a la similitud entre píxeles vecinos	$CR = \frac{\sum_k \sum_l P(k, l) - \hat{l}^2}{\hat{\sigma}^2}$	(80)
Momento de diferencia inversa (IDM) Mejor conocida como homogeneidad; presenta la regularidad local de la textura.	$IDM = \sum_k \sum_l \frac{1}{1 + (k, l)^2} P(k, l)$	(81)
Entropía (ET) medida que indica el grado de desorden en la imagen.	$ET = \sum_k \sum_l P(k, l) \log[P(k, l)]$	(82)

Lo contrario de una verdad no siempre debe ser una mentira, sino todo lo contrario, puede ser otra profunda verdad.

Niels Henrik David Bohr

IV. Resultados y Análisis.

IV. RESULTADOS Y ANALISIS.

Se presentan, siguiendo el orden del capítulo de Metodología, los resultados más relevantes de la investigación.

IV.1. ACTIVIDADES PRELIMINARES.

IV.1.1. Parámetros de control de materia prima.

Para evaluar los parámetros termodinámicos, se requería tener el control sobre la materia prima o carne fresca (F), (actividades definidas en el punto III.2.1.1) por lo que los resultados se presentan en el Cuadro 4.10.

Cuadro 4.10. Parámetros de control de materia prima.

	% humedad	% proteína	Aw	pH	L*	a*	b*	Pigmentos (µg/g musculo)
promedio	72.46	21.83	0.91	6.03	43.05	8.41	5.83	22.12
desviación	0.73	2.25	0.0049	0.56	2.62	0.62	2.81	5.57
CV %	1.01	10.33	0.54	0.29	6.09	7.37	48.24	25.19

Los valores promedio de cada variable representan la medida de tendencia central más utilizada, que considera todos los resultados analizados; la desviación estándar, es la raíz cuadrada del promedio de las desviaciones al cuadrado de los datos a partir de su media, representa una variación “absoluta” entre los valores y el coeficiente de variación, dado en porcentaje, da la dispersión relativa de la desviación estándar con respecto a su media, por lo tanto es una medida de la precisión. En los resultados obtenidos, el promedio del % de humedad y proteína son similares a los reportados en la bibliografía, sin embargo, el CV de la última es mayor indicando que existió mayor variación atribuida a los diferentes lomos analizados. En la concentración de mioglobina para la carne fresca, Gooding y colaboradores (2009) reportaron valores entre 1.6-2.0 mg/g, implicando nuevamente el efecto del lomo por presentarse un elevado % del CV.

La A_w , definida como la relación que existe entre la presión de vapor de un alimento y la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura, tiene una gran influencia en el crecimiento de los microorganismos y presentó un valor promedio adecuado para el desarrollo de bacterias.

El pH al ser una unidad logarítmica, no tiene unidades de medida pero un pequeño cambio indica una gran variación, en el caso de la carne no puede ser considerado homogéneo, a pesar del bajo valor de la variación relativa. La influencia del pH sobre las características de color, terneza, sabor, capacidad de retención de agua y tiempo de conservación, son las razones por las que el pH, no sólo afecta a las propiedades organolépticas de la carne, sino también a su calidad higiénica y a su aptitud tecnológica para la elaboración de productos cárnicos. Quiao y colaboradores (2007) reportaron valores mínimos y máximos de pH en su estudio de 5.56 y 6.06, con valor promedio de 5.56 y Desviación estándar (Sd) de 15.58, por lo que el CV es muy superior al 100 %, lo que nos permite asegurar un mayor control en las variables que afectaron esta propiedad como son: factores ante, post mortem (Sañudo, 2006). Mancini y Hunt (2005) citan que cuando el pH fue inferior a 6.1, se percibió un cambio leve de color.

Generalmente la luminosidad (L^*) no es considerada como un índice apropiado para la descoloración, sin embargo es usado como parámetro de control, Quiao y colaboradores (2007) reportaron valores mínimos y máximos de 44.67 y 67.89 y establecieron una correlación opuesta para cuatro clases de calidad en carne de cerdo con respecto al pH. Mancini y Hunt (2005) sugirieron que L^* puede ser el mejor indicador de las características PSE o DFD en cerdo y encontraron una pequeña correlación entre el pigmento hemo y de metamioglobina ($r = 0.35 - 0.45$). En el caso de b^* presentó una menor correlación con los mismos pigmentos ($r = 0.40, 0.50$, respectivamente). En los resultados de nuestra investigación, los componentes del color a^* (eje verde - rojo) y el componente b^* (eje azul - amarillo), presentaron CV elevados, indicando gran dispersión debida nuevamente a los cortes y a los puntos de muestreo.

IV.1.2. Validación de termopares.

Con la validación de termopares (III.2.1.2.) se establecieron las ecuaciones de corrección, (Cuadro 4.11.), que permitieron dar confiabilidad a la medición de temperatura durante la congelación, descongelación y recongelación. Los resultados de cada una de las pruebas se presentan en el anexo correspondiente.

Cuadro 4.11. Ecuaciones de corrección para termopares.

ECUACIÓN DE CORECCIÓN	TERMOPAR	
Termopar 1	$y=1.0114x-1.0422$	$R^2 =0.9996$
Termopar 2	$y=1.0027x-0.3040$	$R^2 = 0.9999$
Termopar 3	$y=1.0114x-0.3888$	$R^2 = 1.0000$
Termopar 4	$y=1.0038x-0.3847$	$R^2 = 1.0000$

Las ecuaciones de corrección muestran valores de pendiente muy cercanos al valor de 1, concordando con los resultados del coeficiente de determinación que fueron útiles para evaluar la bondad de ajuste del modelo a lo datos, ya que mide la capacidad predictiva del modelo ajustado. Se define como el cociente entre la variabilidad explicada por la regresión y la variabilidad total, por lo tanto la validación nos da la confiabilidad adecuada de las lecturas de temperatura.

IV.1.3. Caracterización de la cámara de congelación.

La velocidad del aire en el interior de la cámara de congelación no presentó diferencias significativas entre las zonas analizadas como puede verse en el Cuadro 4.12, donde con los valores de F cal y F (0.05) se acepta la hipótesis de igualdad de medias.

Cuadro 4.12. Resultados de ANOVA de 1 vía para velocidad del aire al interior de cámara de congelación.

Fuente	gl	SC	CM	F cal	F (0.05)
Posición	15	3,59	0,25	0,2548	2.01
Error	30	0,05	0,0018		
Total	45	3,65	0,0828		

Por lo que, para la congelación de la carne se podría utilizar cualquier zona de la cámara. Bajo este criterio, se determinó que la velocidad promedio de aire era 1.7 m/s con un CV= 4.13 %, con un control de temperatura -25 °C, $\Delta T \pm 2$ °C. El coeficiente convectivo de 7.76 W/m², correspondiente a una velocidad de congelación lenta.

IV.2. Objetivo particular 1.

IV.2.1. Parámetros termodinámicos durante la congelación.

IV.2.1.1. Análisis térmico de carne bajo condiciones no isotérmicas.

a) Análisis de la congelación a partir de la fusión.

El proceso de congelación en alimentos es algo más complejo que la congelación de agua pura, donde la remoción de energía da como resultado una disminución de temperatura, conocido como el decremento del punto inicial de congelación (ΔPIC), para soluciones diluidas se considera el calor latente de fusión (λ) por unidad de masa, o bien con la fracción molar de la misma en la solución. Para el cambio de fase en la fusión se requieren 334 kJ/kg, donde una parte de la energía es requerida para romper las estructuras sólidas y otra que es asociada con las fuerzas intermoleculares del estado líquido. Cuando se llega a la temperatura de fusión, los cristales de hielo comienzan a separarse, las cadenas abandonan sus arreglos ordenados y comienzan a moverse libremente liberando λ de fusión, así

mismo en el proceso inverso existe un λ de cristalización. Cuando se alcanza la temperatura de fusión, ésta no se incrementará hasta que hayan fundido todos los cristales, a diferencia de la cristalización en congelación, donde existe la nucleación primaria y secundaria (Kiani y Sun, 2011) dando una organización definida y periódica, que es la base de la estructura cristalina y que es seguida por el crecimiento de los núcleos y los cristales. Tanto la fusión y la cristalización son transiciones de fase de primer orden, lo que implica que, siempre y cuando coexisten sólidos y líquidos, la temperatura de equilibrio del sistema se mantiene constante e igual a la del punto de fusión (Rahman y col., 2010).

Si un alimento fue congelado en forma lenta, habrá una fracción importante de proteínas desnaturalizadas y daños celulares, con lo cual la capacidad de retención de agua del tejido es reducida, esta irreversibilidad propicia que una parte del agua líquida formada en la descongelación no será retenida por el tejido y por lo tanto se genera un fenómeno de sinéresis o pérdida del fluido. Si fue congelada en forma rápida, el agua extracelular será menor y la capacidad de retención mayor, por lo que la salida de jugos exudados será menor. En el caso de los alimentos, se habla de transiciones de un estado metaestable, en donde la mayoría de las descomposiciones y reacciones de polimerización no son reversibles, por lo que la comparación de la curva de calentamiento con la curva de enfriamiento establece la diferencia en el fenómeno con un posible cambio en la masa (Badui, 2006).

La Figura 4.33. presenta el comportamiento entre la cristalización de una muestra de carne fresca (F), donde se aprecia que la energía requerida para formar y fundir cristales es prácticamente la misma, en la cristalización la temperatura inicial (T_i) es de $-15\text{ }^\circ\text{C}$, la temperatura máxima (T_{max}) de $-15.13\text{ }^\circ\text{C}$ y una entalpía total (ΔH_T) de 174.4 J/g ; en la fusión se tiene una $T_i = -4.43\text{ }^\circ\text{C}$, $T_{max} = 1.49\text{ }^\circ\text{C}$ y un requerimiento energético de 181.1 J/g . Este comportamiento es similar al presentado por Sunooj y colaboradores (2009) en pollo y carnero a velocidad de enfriamiento de $2\text{ }^\circ\text{C/min}$ y temperatura de 20 a $-30\text{ }^\circ\text{C}$ con una $T_i = -11.83 \pm 0.71\text{ }^\circ\text{C}$, con $\Delta H_T = 157 \pm 1.48\text{ J/g}$; $-10.01 \pm 0.27\text{ }^\circ\text{C}$ y $\Delta H = 176 \pm 1.53\text{ J/g}$, respectivamente.

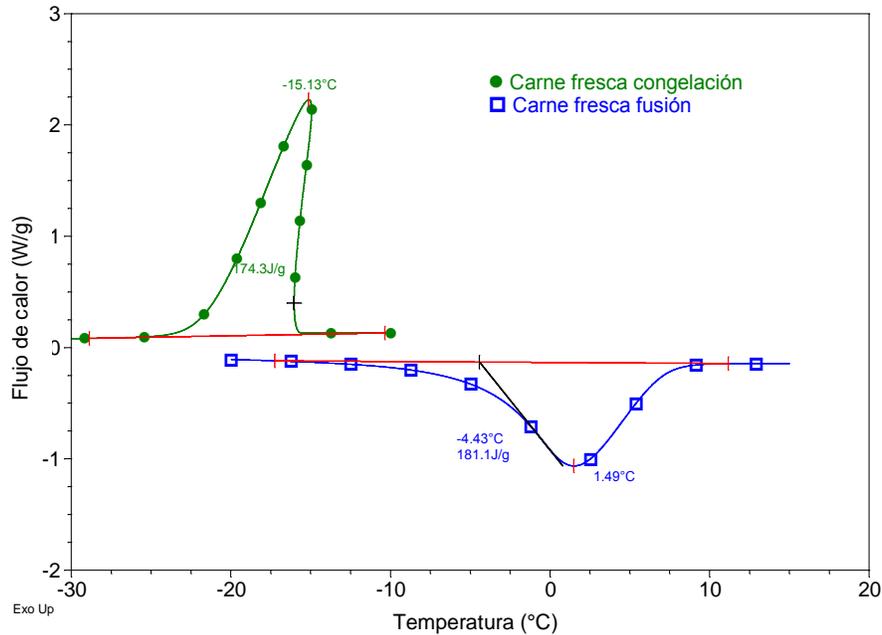


Figura 4.33. Termogramas de cristalización y fusión en carne de cerdo fresca.

Hansen y colaboradores (1999) citan que las proteínas globulares, definidas como sistemas mesoscópicos, están plegadas en una fase sólida y presentan una conformación atómica fija ya sea en un sólido cristalino o amorfo, pero que están ordenadas de tal forma que cada molécula se dobla de una misma forma, y carece de la simetría traslacional de un cristal. A diferencia de cualquier otro sólido conocido, las proteínas globulares no son realmente rígidas, siendo capaces de realizar grandes movimientos conformacionales conservando localmente la misma estructura plegada, por lo que, la transición de proteínas en una fusión es definida como un desdoblamiento en frío o una desnaturalización en frío, donde el ΔH_T entre el estado desdoblado y nativo es negativo, significando que el proceso libera calor (calor latente negativo) y cuando $\Delta H_T > 0$ corresponde a una transición de desdoblamiento positiva con λ correspondiente al calentamiento. En este caso se obtienen una diferencia en el ΔC_p entre los dos estados que es particular de las proteínas y sobretodo en la transición en la fusión donde la capacidad calorífica (C_p) es pequeña, por lo que se puede considerar a la fusión y a la cristalización como un proceso inverso.

En el manual de operación del equipo (TA Instruments, 2000) se establece que existe un mayor control en calentamiento que en enfriamiento, y aunque se sabe que en el MDSC la onda sinusoidal que se superpone al calentamiento lineal, es diferente en cada ciclo en las velocidades de calentamiento y enfriamiento, estas señales al ser convertidas mediante programas manejados por el equipo como lo es la transformada discreta de Fourier (DFT), permite un análisis térmico adecuado entre la cristalización y la fusión de materiales alimenticios por los intervalos de temperatura manejados. Idealmente la fusión ocurre a una sola temperatura, pero las condiciones de equilibrio nunca ocurren en la práctica; en particular para polímeros que presentan un intervalo de temperaturas de fusión correspondiente a la fusión de cristales de diferentes grados de calidad cristalina (Rabel, Jona y Maurin, 1999). Por lo tanto, la entalpía de fusión (ΔH_{fus}) comúnmente se extiende sobre un amplio intervalo de temperaturas (Wunderlich B., 1990). En este sentido, Ascolese y Graziano (2008) establecieron que las proteínas globulares en soluciones acuosas muestran dos transiciones conformacionales: la desnaturalización en calentamiento y la desnaturalización en frío. Generalmente esta última no ha sido estudiada ya que no es fácilmente detectada por que se confunde en la congelación del agua. Además, la desnaturalización en enfriamiento es exotérmica y conduce a un estado desordenado de la cadena polipeptídica. Esto lo comprobaron en una fracción proteica globular de *Saccaromices cerevisiae*, por resonancia magnética nuclear, encontrando que existían dos picos endotérmicos a $T_{enf} = -1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $T_{cal} = 90\text{ }^{\circ}\text{C}$ con diferentes requerimientos de entalpía y entropía de desnaturalización ($\Delta H_{enf} = -85\text{ kJ/mol}$ y $\Delta H_{cal} = 89.5\text{ kJ/mol}$; $\Delta S_{enf} = -305\text{ J /Kmol}$, ; $\Delta S_{cal} = 295\text{ J /Kmol}$) valores que confirman que la desnaturalización en frío es un proceso exotérmico con un cambio de entropía negativa asociada, que disminuye el desorden de la cadena de polipéptidos, sugiriendo la participación de las moléculas de agua.

b) Verificación de las condiciones experimentales.

Para verificar que las condiciones experimentales en condiciones no isotérmicas fueron las adecuadas, se realizaron los gráficos de Lissajus (el ejemplo

de estos gráficos se presentan en la Figura 4.34.), que indican que la respuesta de la señal sinusoidal al estímulo armónico se ajusta a la formación de círculos definidos por lo que velocidad de calentamiento fue adecuada (Baroni, Sereno y Hubinger, 2003). El FC_T representa al estímulo armónico y la velocidad de calentamiento a la onda sinusoidal de la modulación, dependiendo del periodo de la onda sinusoidal se define el estímulo armónico con lo cual se completa un ciclo (Cao, 1999). El grafico de Lissajus señala que las condiciones bajo las cuales se realizó la experimentación fueron adecuadas para el material (Wunderlich y col., 1999). No se presentan todos los gráficos pero en cada condición experimental fueron confirmadas las condiciones.

Para verificar la correcta aplicación de las condiciones de operación en procesos cuasi-isotérmicos, se presenta en las Figuras 4.35. y 4.36., el comportamiento de la modulación en carne fresca y liofilizada, en donde la formación de círculos definidos permitió establecer que las condiciones de amplitud y periodo de la modulación utilizadas fueron adecuadas y que las corridas se llevaron bajo control; las diferencias que se presentan en forma y tamaño se deben a eventos térmicos de interés en las muestras analizadas.

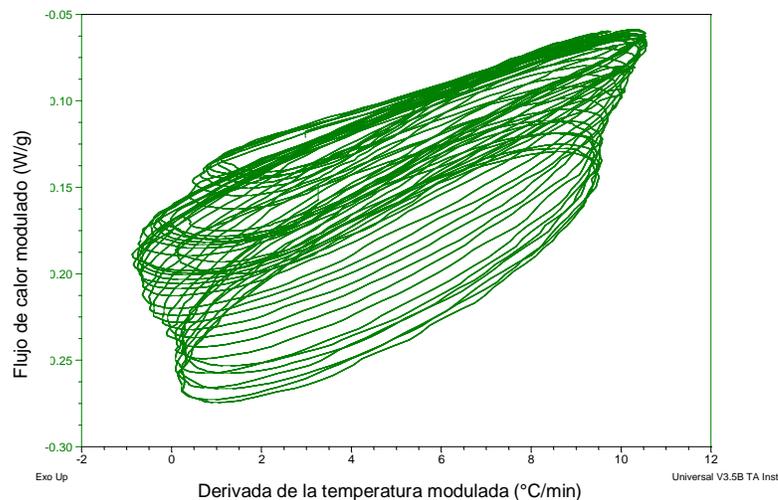


Figura 4.34. Gráfico de Lissajous para carne fresca en condiciones no isotérmicas.

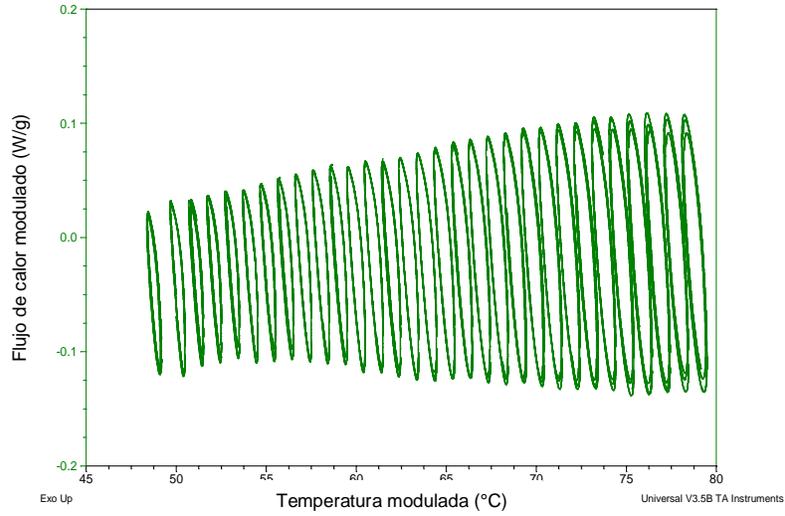


Figura 4.35. Gráfico de Modulación para carne fresca en condiciones cuasi-isotérmicas.

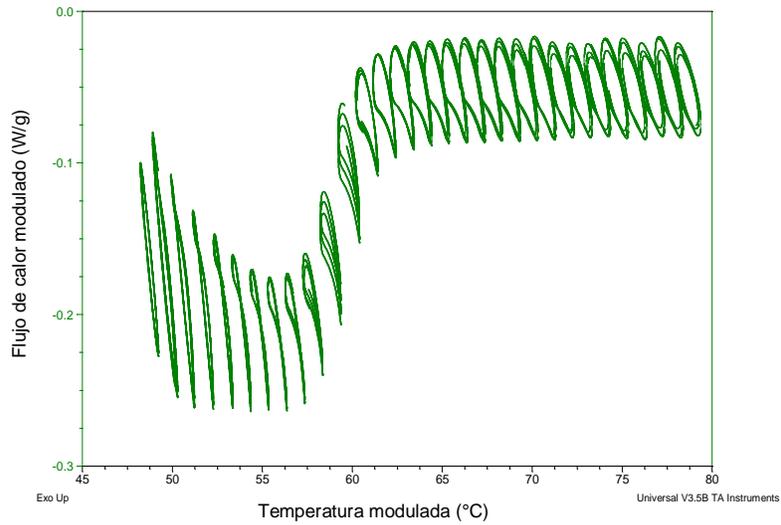
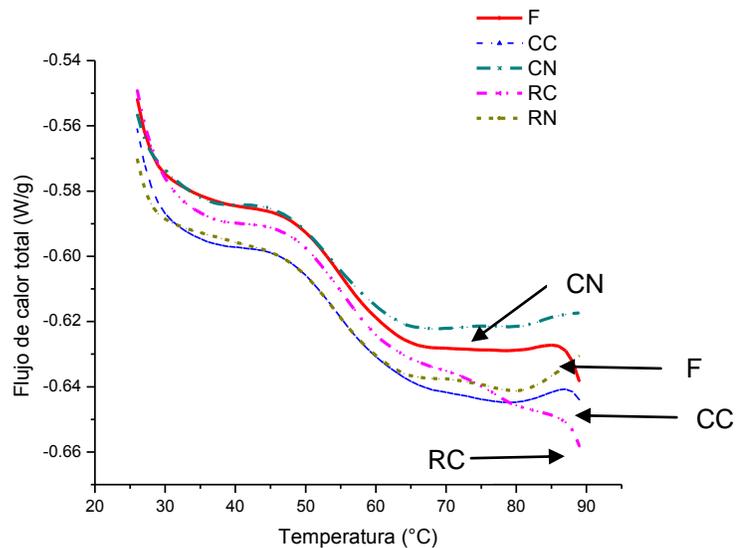


Figura 4.36. Gráfico de Modulación para carne liofilizada en condiciones cuasi-isotérmicas.

IV.2.2.2. Determinación de las transiciones más importantes en carne fresca, congelada y recongelada y sus liofilizados.

a) Carne sin liofilizar.

Los termogramas de la carne fresca (F), congelada en cámara de convección forzada (CC), recongelada en cámara de convección forzada (RC), congelada en Nitrógeno líquido (CN) y recongelada de Nitrógeno líquido y colocada en cámara de convección forzada (RN) se muestran en la Figura 4.37. El Cuadro 13 resume las temperaturas de desnaturalización y la entalpía (ΔH_T) de estas muestras.



F= carne fresca; CC= carne congelada en cámara de convección forzada; CN= carne congelada por contacto indirecto en Nitrógeno líquido; RC= carne recongelada en cámara de convección forzada y RN= carne congelada en Nitrógeno líquido y recongelada en cámara.

Figura 4.37. Termogramas de Flujo de calor total (FC_T en MDSC de carne fresca, congelada y recongelada. Muestras de cámara de convección forzada y por contacto indirecto en Nitrógeno líquido.

No se percibe mucha diferencia en los perfiles térmicos en las muestras, principalmente si se compara a la F con la CN en el intervalo hasta 55 °C; un comportamiento similar entre la CC y la RN y diferente en RC, lo que sugiere que el proceso de congelación causa una moderada desnaturalización de proteínas. Los cambios observados a mayor temperatura, muy cercanos a la temperatura de

ebullición del agua a la altitud del Estado de México, corresponden a las carnes F, CC y RC, lo que hace suponer que habrá mayor cantidad de agua disponible por reacomodo de proteínas, a diferencia de las CN y RN, donde los cristales de hielo al ser de menor tamaño modifican en menor medida el acomodo estructural.

Cuadro 4.13. Temperaturas de desnaturalización de proteína y entalpía en carne fresca, congelada y recongelada.

Muestra de carne	T _i (°C)	T _m (°C)	T _f (°C)	ΔH _T (J/g)
F	51.92 ± 0.11 ^a	64.88 ± 0.30 ^a	85.33 ± 0.50 ^a	2.039 ± 0.58 ^a
CC	50.49 ± 0.21 ^a	65.96 ± 0.32 ^a	87.81 ± 0.41 ^a	2.650 ± 2.00 ^a
CN	50.15 ± 0.46 ^a	64.37 ± 0.44 ^a	86.25 ± 0.37 ^a	2.381 ± 1.24 ^a
RC	38.42 ± 0.18 ^c	86.73 ± 0.19 ^b	90.28 ± 0.17 ^b	1.708 ± 0.87 ^c
RN	47.95 ± 0.09 ^b	64.33 ± 0.08 ^c	87.87 ± 0.07 ^a	2.966 ± 0.56 ^b

F= carne fresca; CC= carne congelada en cámara de convección forzada; CN= carne congelada por contacto indirecto en Nitrógeno líquido; RC= carne recongelada en cámara de convección forzada y RN= carne congelada en Nitrógeno líquido y recongelada en cámara.

T_i= Temperatura inicial; T_m= Temperatura máxima; T_f= Temperatura final; ΔH_T= Entalpía total (J/g)

Promedio de tres replicas ± desviación estándar. Los promedios con la misma letra en la misma columna no presentaron diferencias significativas (Tukey > 0.05)

Las regiones de transición son relacionadas con la desnaturalización de las siguientes proteínas: miosina (56 °C), miosina más proteínas sarcoplásmicas y colágeno (66 °C) y actina (78 °C), que corresponden a las temperaturas de desnaturalización reportadas por Deng y colaboradores (2002) y Zhu y colaboradores (2004), entre otros. Brunton y colaboradores (2006) encontraron marcados cambios en las propiedades dieléctricas de músculo de res (*biceps femoris*) en el intervalo de 5 °C a 85 °C y los relacionaron con la temperatura de desnaturalización (evaluadas por DSC) de las principales proteínas estructurales de la carne (particularmente el colágeno). Sus evaluaciones en el DSC, utilizando una velocidad de calentamiento de 10 °C/min, les permitieron ubicar tres transiciones térmicas en la curva de calentamiento a 59, 66 y 82 °C, y las relacionaron nuevamente con las temperaturas de desnaturalización de la miosina, colágeno y actina, respectivamente.

Bertram y colaboradores (2006) en un estudio realizado en carne de cerdo mediante relaxometría NMR y calorimetría diferencial de barrido (DSC), encontraron una correlación entre la desnaturalización de las cadenas de miosina a ~53-58 °C y los cambios inducidos térmicamente en el agua miofibrilar, así como entre la desnaturalización de la actina a ~80-82 °C y la expulsión de agua de la carne. Las evaluaciones realizadas con el DSC a una velocidad de calentamiento de 1 °C/min de 3 a 90 °C, le permitieron ubicar tres endotermas de transición a 54, 65 y 77 °C, que correspondían a la desnaturalización de miosina, proteínas sarcoplásmicas-colágeno y la actina, respectivamente.

Murphy, Marks y Marcy (1998), encontraron tres endotermas de transición en pechuga de pollo a 53, 70 y 79 °C, las cuales ubicaron como las temperaturas de desnaturalización de proteínas miofibrilares (53 °C) y sarcoplásmicas (70 y 79 °C) al compararlas con fracciones de proteína purificada.

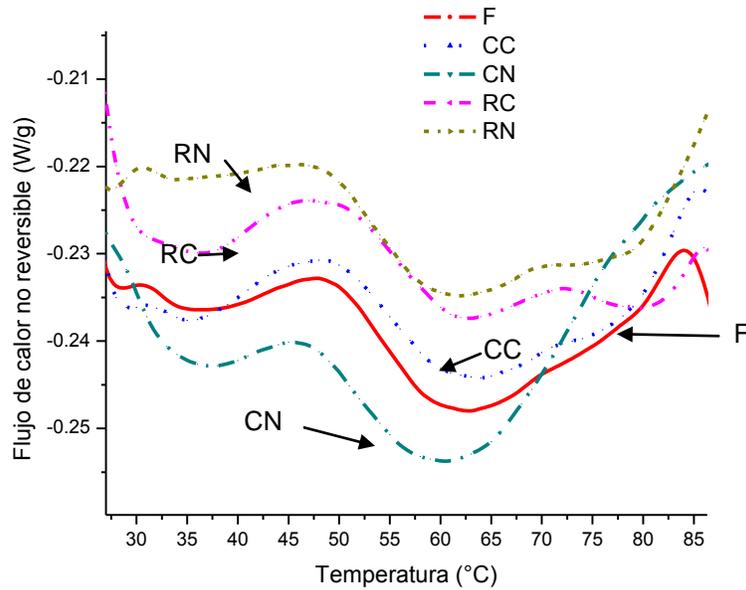
La ΔH_T de desnaturalización de la carne F fue 2.039 J/g; estos resultados están de acuerdo con los reportados por Kazemi y colaboradores (2009) con un valor de 2.83 J/g en cerdo con calidad PSE (pálido, suave y exudativo). Al hacer las comparaciones de los requerimientos energéticos teniendo como base a la carne F, se presenta un aumento de entalpía del 30 % contra CC, CN= 17 %, disminución en RC= 17 % y RN=45 %.

Fernández-Martín y colaboradores (2000) reportaron una reducción de la entalpía de desnaturalización en músculos de cerdo y vacuno sometidos a procesos alta-presión en congelación. Mietsch y colaboradores (1994) utilizan electroforesis para investigar la desnaturalización de las proteínas de las muestras de carne de cerdo almacenado a -20 °C hasta seis meses sin encontrar cambios significativos durante todo el período de almacenamiento congelado. Estos resultados sugieren que otro factor que pudo haber sido responsable de los cambios observados en los perfiles de desnaturalización. Sin embargo, la recristalización si produce un cambio en el comportamiento térmico, la carne sometida a recongelación en cámara presentó una mayor variación.

La separación del flujo de calor total (FC_T) en reversible (FC_{rev}) y no reversible ($FC_{no\ rev}$) facilita la interpretación de los eventos que ocurren; en el $FC_{no\ rev}$ un pico endotérmico que refiere un cambio entálpico (Coleman y col., 1996), el cual puede definirse como la energía requerida para tener el cambio cinético (que representa el componente cinético del FC_T y que está en función del tiempo y la temperatura) de las proteínas, análisis que no se ha reportado por otros investigadores.

En la Figura 4.38. se presentan los comportamientos en el $FC_{no\ rev}$, asociados principalmente a procesos de cristalización o evaporación, a la desnaturalización de proteínas, y/o a una relajación entálpica (siempre y cuando se realice la comparación entre la curva de entalpia durante el calentamiento contra la curva de entalpia de enfriamiento $\Delta H_T = H(T_{cal}, t_0) - H(T_{enf}, t_0) = \int_{T_1}^{T_0} (C_{p_{cal}} - C_{p_{enf}}) dT$) (Verdonck, 1999) y en el Cuadro 14 los principales cambios cinéticos en cada uno de los tratamientos térmicos conforme al FC_T no reversible. Al igual que en el Flujo de calor total, se encuentran diferencias a altas temperaturas, lo que permite reforzar el supuesto del efecto de la desnaturalización de las proteínas que en la carne F, se encuentran en su estado nativo, con mayor probabilidad de presentar agua libre mayormente susceptible a ser evaporada.

Christensen y colaboradores (2011), estudiaron la relación entre las interacciones agua-proteína y la desnaturalización de la misma en *Longissimus dorsi* inducida por el calor de baja temperatura (congelación a -20 °C) sin mencionar el tiempo de almacenamiento, las muestras fueron calentadas a 53, 55, 57 y 58 °C en 3 y 20 h, las mediciones DSC revelaron una disminución de ΔH_T a 68 °C (0.280, 0.149, 0.126 y 0.024 J/g respectivamente) lo que sugiere el impacto de la desnaturalización del colágeno en la retención de agua dentro de la carne durante el tratamiento a baja temperatura. Además, una disminución de ΔH_T a 75 °C sugirió que cocción prolongada (20 h) dio lugar a la desnaturalización de la actina.



F= carne fresca; CC= carne congelada en cámara de convección forzada; CN= carne congelada por contacto indirecto en Nitrógeno líquido; RC= carne recongelada en cámara de convección forzada y RN= carne congelada en Nitrógeno líquido y recongelada en cámara.

Figura 4.38. Flujo de calor no reversible en función a la temperatura para muestras de carne.

La desnaturalización térmica irreversible es atribuida generalmente a alteraciones del estado final, como la autólisis, las alteraciones químicas de los residuos de aminoácidos, etc., que impiden que la proteína adopte su estructura nativa, sin embargo, se debe considerar que el proceso de degradación de las proteínas se realiza en dos etapas, la primera, reversible, correspondiente al proceso de desplegamiento (desnaturalización) y una segunda parte irreversible, que conduce a un estado final (degradación), que implica la pérdida total de la actividad de la proteína. Nuestros resultados (Cuadro 4.14.) permiten establecer que el comportamiento cinético del cambio, están relacionados con los cambios en el FC_T , sin considerar el FC_{rev} enfocado principalmente a los cambios en C_p .

Cuadro 4.14. Temperaturas iniciales, máximas, finales y entalpías en flujo de calor no reversible.

Muestra	No. de transición	T _i (°C)	T _m (°C)	T _f (°C)	ΔH _T (J/g)
			°C	°C	J/g
F	1	31.29	36.61	47.37	0.1819
	2	50.74	59.87	71.36	0.7199
	3	72.15	79.21	84.01	0.0789
CC	1	31.84	36.41	46.43	0.1300
	2	51.29	60.52	71.66	0.5825
	3	73.03	79.27	85.60	0.1761
CN	1	30.73	36.23	45.08	0.2608
	2	47.97	60.15	71.41	1.1940
	3	72.59	81.07	87.86	0.2188
RC	1	31.51	37.20	44.70	0.1453
	2	52.27	61.41	71.32	0.4937
	3	73.39	80.96	85.95	0.2204
RN	1	31.33	37.68	47.55	0.1380
	2	50.45	59.51	70.83	0.4805
	3	73.56	79.57	89.70	0.2012

F= carne fresca; CC= carne congelada en cámara de convección forzada; CN= carne congelada por contacto indirecto en Nitrógeno líquido; RC= carne recongelada en cámara de convección forzada y RC= carne congelada en Nitrógeno líquido y recongelada en cámara.

T_i= Temperatura inicial; T_m= Temperatura máxima; T_f= Temperatura final; ΔH_T= Entalpía total (J/g)

Se realizó una comparación estadística entre los diferentes tratamientos térmicos de la carne en función a las T_i, T_{max}, T_f y ΔH_T que son presentados en la Figura 4.39., donde se observa una variación superior en las entalpías cinéticas, principalmente en la segunda transición de la CN. Así mismo se resalta que existen diferencias significativas (α=5%) en todos los casos entre las transiciones, pero no en entre los tratamientos; se obtuvieron coeficientes de determinación (R²) ajustado (que representa el número de valores de predicción en el modelo) para T_i=99.78 % T_{max} =99.85 %, T_f =99.21 % y para ΔH_T =71.86 %. Como puede observarse en el mismo gráfico, en la parte correspondiente a T_i, la carne CN presenta los valores promedio más bajos en las dos primeras transiciones, valores superiores de ΔH_T en las tres transiciones, indicando que se requiere más energía para la desnaturalización de proteínas posiblemente por el acomodo de los cristales de hielo que modificaron la estructura.

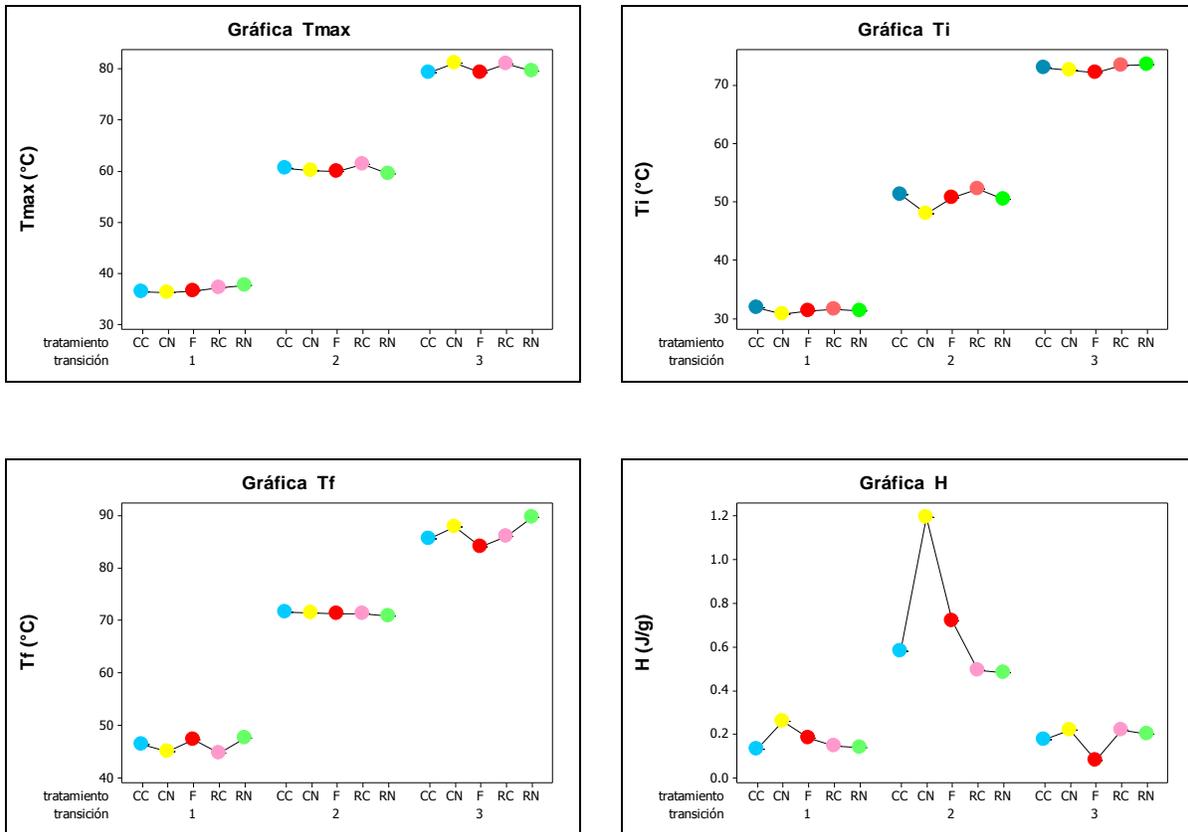
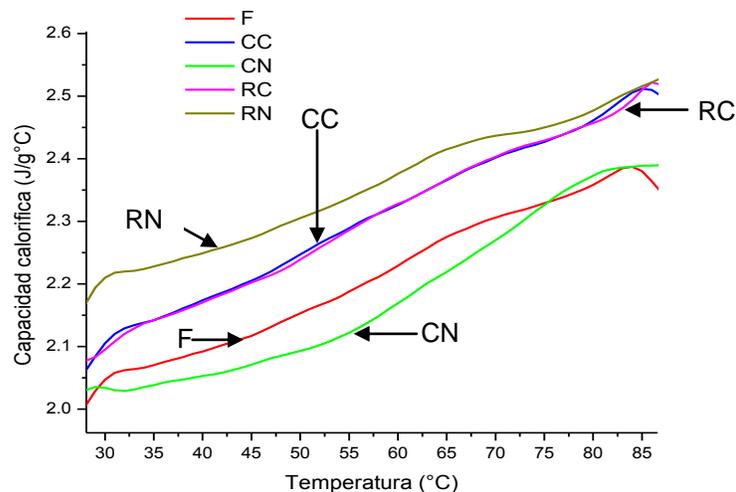


Figura 4.39. Análisis de 2 vías para la comparación de parámetros termofísicos en carne tratada térmicamente.

En forma indirecta, los cambios estructurales de la carne se pueden determinar por medio de la capacidad calorífica, por lo que en la Figura 4.40. se muestra el comportamiento de Cp en las muestras, donde se observaron cambios continuos en el intervalo de 45 a 85 °C, con un cambio máximo de alrededor de 80 °C, con curvas de comportamiento muy similares en las carnes CC y RC y F y CN; sin embargo, se presentó una reducción en el valor de Cp en F y CN.



F= carne fresca; CC= carne congelada en cámara de convección forzada; CN= carne congelada por contacto indirecto en Nitrógeno líquido; RC= carne recongelada en cámara de convección forzada y RN= carne congelada en Nitrógeno líquido y recongelada en cámara.

Figura 4.40. Comportamiento de capacidad calorífica en las diferentes muestras tratadas térmicamente.

En el Cuadro 4.15. se presentan los resultados de los cambios en C_p de las muestras y en la Figura 4.41. la comparación de las medias de los tratamientos. En ambos casos se observa que las muestras de carne sometidas a congelación y recongelación modifican la estructura del material o bien la forma en la que el agua interactúa dentro de la matriz cárnica o bien, con el contenido de humedad de las muestras. Este tipo de comportamiento fue reportado por Sweat, 1995, que especifica el agua contribuye en gran medida a la capacidad calorífica aparente.

Las muestras F, CC y RC son estadísticamente iguales con diferente valor promedio (2.16, 2.30 y 2.30 $J/g^{\circ}C$, respectivamente) y la CN y RN (2.18 y 2.35 $J/g^{\circ}C$) iguales entre ellas pero con diferentes comportamientos; como se esperaba, en el caso de la carne RN, se presentó el mayor daño por el crecimiento de los pequeños cristales formados inicialmente que incrementan el valor máximo de C_p (2.35 $J/g^{\circ}C$); sin embargo, la $C_{p_{ap}}$ de estas muestras es similar a los reportados por Kemp y colaboradores (2009), quienes encontraron valores de C_p entre 1.5 a 2.7 $J/g^{\circ}C$ para las proteínas miofibrilares en carne de cerdo en un intervalo de temperatura de 30 a 85 $^{\circ}C$.

Cuadro 4.15. Cp de las muestras de carne tratadas térmicamente.

Carne	Media Cp (J/g°C)	Desv.Est.	Coef.Var.	Mínimo	Máximo
F	2.1688	0.1357	6.26	1.905	2.385
CC	2.3010	0.137	5.95	2.022	2.512
CN	2.1806	0.1333	6.11	1.991	2.391
RC	2.3003	0.135	5.87	2.076	2.522
RN	2.3538	0.1116	4.74	2.106	2.540

F= carne fresca; CC= carne congelada en cámara de convección forzada; CN= carne congelada por contacto indirecto en Nitrógeno líquido; RC= carne recongelada en cámara de convección forzada y RN= carne congelada en Nitrógeno líquido y recongelada en cámara.

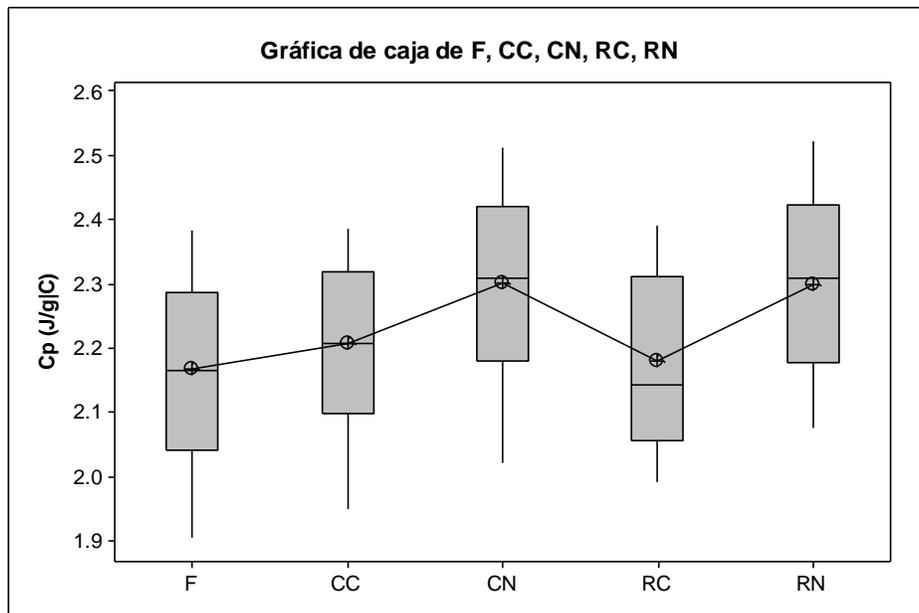


Figura 4.41. Comparación de cambios en Cp después de los tratamientos térmicos a bajas temperaturas.

Ascolese y Graziano (2008) establecen, para el caso de Cp, existe un pico más alto en el enfriamiento, lo que significa que se tiene una capacidad de renaturalización de las estructuras globulares. Esto se presenta por la interacción de

las moléculas de agua con los grupos péptidicos polares desdoblados que favorecen la conformación desordenada de las cadenas polipeptídicas a bajas temperaturas. El término ΔG_w es una temperatura efectiva dependiente de la energía Gibbs que se consideran para interacción de los enlaces del agua y enlaces que se rompen por efecto de la temperatura, también considera, el número de moléculas fragmentadas. Se habla del efecto de un volumen excluido en proteínas globulares que es nuevamente causado por la presencia de cadenas polipeptídicas asociadas con el agua, que depende de la conformación adoptada por la cadena, por lo que el efecto hidrofóbico estabiliza el estado plegado compacto.

A muy bajas temperaturas el efecto volumen excluido (el efecto hidrofóbico) se ve influenciado por los grados de libertad de la cadena polipeptídica y de las interacciones energéticas de las moléculas de agua con grupos polares y no polares de la proteína, causando la desnaturalización en frío.

A temperatura ambiente, el equilibrio de energía de Gibbs es revertido porque el efecto volumen excluido, con su dependencia de la temperatura como efecto dominante, estabiliza el estado plegado nativo de la proteína. A mayor temperatura, la entropía conformacional de la cadena de polipéptido supera otras contribuciones, causando desnaturalización en caliente. Esto podría considerarse una interpretación, en términos moleculares del argumento clásico de que la desnaturalización en frío es una manifestación directa de la fuerte dependencia de la temperatura, de las interacciones entre agua y la cadena de polipéptidos.

b) Carne liofilizada.

La deshidratación por liofilización permite la creación de estructuras metas estables que impiden el efecto plastificante del agua. Se sabe que agua contenida en un alimento ejerce una presión de vapor que es inferior a la ejercida por el agua pura a la misma temperatura del alimento. La disminución de ésta modifica la interacción de las moléculas con los grupos polares de los polímeros alimenticios, principalmente proteínas y carbohidratos y equivale a la disolución de estos grupos

en el agua; la disolución de los solutos micromoleculares (sales, azúcares, etc.) y la presencia del agua dentro de los poros capilares del alimento. Esto se resalta ya que en el estudio de la termodinámica sobre el efecto de los tratamientos térmicos, con una relativa ausencia de agua, se minimizan varias reacciones degradativas; se reduce el transporte de masa controlando la pérdida de compuestos volátiles y se disminuye la actividad de agua (a_w). Esta disminución impide que el agua libre contenida, sea utilizada como disolvente para reactantes y productos (como en reacciones de hidrólisis), modifica la actividad catalizadora o inhibidora de otras sustancias (por ejemplo inactiva algunos de los catalizadores metálicos de la peroxidación de los lípidos), entre otras (Karel, 1979).

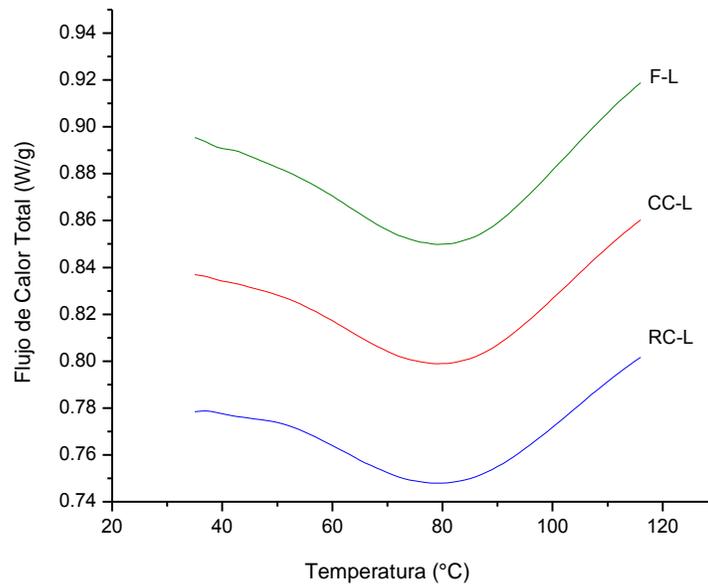
Se presenta en la Figura 4.42. los termogramas correspondientes a la carne F-L, CC-L y RC-L, donde se observa un pico central a los 81.85 °C. El contenido de humedad influye en la forma y tamaño de las curvas en el análisis térmico; el tratamiento de liofilización modifica las transiciones para miosina, miosina más proteínas sarcoplasmicas y colágeno prácticamente no se presentan. Las diferencias estadísticas en el ΔH_T son registradas en el Cuadro 4.16.; donde se observa que la mayor entalpía es en carne fresca liofilizada (F-L =70.42 J/g) y con menor requerimiento energético en carne recongelada liofilizada (RC-L =57.13 J/g).

Cuadro 4.16. Temperaturas de desnaturalización y entalpía en carne fresca, congelada y recongelada liofilizadas.

Muestra de carne	T_m (°C)	ΔH_T (J/g)
F-L	81.99 ± 0.09 ^a	70.42 ± 2.6 ^a
CC-L	81.83 ± 0.10 ^b	64.39 ± 3.1 ^b
RC-L	81.76 ± 0.13 ^a	57.13 ± 2.1 ^c

F-L= carne fresca liofilizada; CC-L= carne congelada en cámara de convección forzada y liofilizada; RC-L= carne recongelada en cámara de convección forzada y liofilizada.

T_m = Temperatura máxima; ΔH_T = Entalpía total (J/g).



F-L= carne fresca liofilizada; CC-L= carne congelada en cámara de convección forzada y liofilizada; RC-L= carne recongelada en cámara de convección forzada y liofilizada.
 T_m = Temperatura máxima; ΔH_T = Entalpía total (J/g).

Figura 4.42. Termogramas para carne fresca, congelada y recongelada liofilizadas.

Comparando los gráficos 37 y 42, se observa la influencia del contenido de humedad sobre el FC_T , el último considerado como una carne deshidratada (a_w menor que 0.62) con relativa estabilidad a los cambios deteriorativos como el oscurecimiento no enzimático, las reacciones enzimáticas y el ataque microbiano (Karel, 1979), por lo que los cambios en el comportamiento son debidos en ambos casos a los tratamientos térmicos de la congelación y recongelación. En cuanto a los cambios de entalpía, los valores disminuyen en porcentajes similares.

En la Figura 4.43., muestra la C_p para las muestras de carne liofilizadas. En este caso, todas las muestras exhiben un amplio cambio en el intervalo de 40 -100 °C. El valor promedio de C_p es de 1.23 J/g°C para F-L, mientras que la CC-L y RC-L presentaron valores de 1.02 y 0.93 J/g°C, respectivamente.

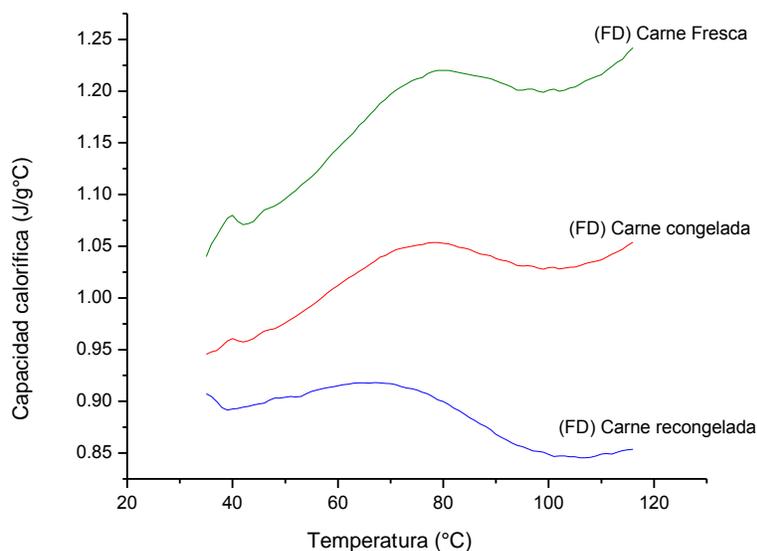


Figura 4.43. Capacidad calorífica para muestras de carne liofilizadas.

Este comportamiento corresponde a otros efectos que se han encontrado referentes a la relación existente entre la actividad acuosa y la velocidad de reacciones enzimáticas como son los siguientes: 1) las reacciones enzimáticas en las que el agua es vehículo de desplazamiento del sustrato a la enzima, o el medio en el cual se efectúa la reacción, no acontecen para actividades iguales o menores que la monocapa; 2) las reacciones en las que el sustrato no requiere del agua para llegar a la enzima, por ejemplo, en aceites y ácidos grasos insaturados, 3) cuando la reacción se efectúa en medio acuoso, la velocidad de reacción aumenta con el aumento de actividad acuosa, siendo la velocidad sumamente lenta en actividades bajas; y 4) la estabilidad de las enzimas al calor aumenta al disminuir la actividad acuosa. Labuza y Hyman (1998).

IV.2.3. Análisis térmico de carne bajo condiciones cuasi-isotérmicas

Los materiales en general pueden presentar eventos térmicos que generen o absorban una cantidad considerable de energía, alterando la señal de respuesta del FC_T , donde, la modulación del flujo no sigue a la modulación de la velocidad de calentamiento (Reading y Hourstone, 2006) por lo que realizar corridas en

condiciones cuasi-isotérmicas, permite obtener segmentos de cada una de las componentes en los intervalos de temperatura manejados, al utilizar isoterma y aumentos de velocidad de 1 °C. Éste tipo de procedimiento permite obtener, mediante una corrección de línea base, la componente denominada ángulo de fase, que tenderá a cero en aquellas zonas en las que no se esté presentando transición alguna y que la alteración en la magnitud del cambio que éste sufre, será reflejo de la presencia de una transición o evento térmico de importancia en la carne.

IV.2.3.1. Carne sin liofilizar.

El análisis cuasi-isotérmico permite eliminar la influencia de la velocidad de calentamiento sobre las transiciones del material en estudio (carne), de manera que sea posible visualizar y poder identificar los cambios que están sufriendo los componentes de interés (proteínas) durante cierto proceso térmico (congelación y calentamiento) y, a la vez evaluar los cambios en sus propiedades termodinámicas, de tal manera que sea posible determinar el grado de modificación o daño que están sufriendo al ser sometidos a diferentes velocidades de calentamiento-enfriamiento.

El MDSC define una capacidad calorífica compleja (C_p^*) como la razón da la amplitud del flujo de calor total (FC_T) y la velocidad de calentamiento (Wunderlich y col., 1999)

$$A_{HF}/A_{HR} = C_p^* \quad (83)$$

A_{HF} es la amplitud de la modulación de flujo de calor, y A_{HR} es la amplitud de modulación de la velocidad de calentamiento, relacionadas con la la amplitud (B) y la frecuencia angular de la modulación (ω), provenientes de la rampa de temperatura lineal modulada con la onda sinusoidal también de temperatura, estas presentan como resultante una de las señales derivadas de deconvolución, la fase lag (ϕ = diferencia de fase entre la modulación en el flujo de calor y la velocidad de calentamiento, también denominada el "retraso de fase", o fase lag) entre la modulación en la velocidad de calentamiento en el flujo de calor. Como el primer

paso en el proceso de deconvolución, los datos sin procesar son promediados en el período de una oscilación dando una señal total, equivalente a la señal de que se hubiera obtenido si no se hubiera usado la modulación, es decir, como una señal de DSC.

Por lo tanto, C_p^* (capacidad calorífica reversible o también llamada capacidad cíclica o módulo de capacidad calorífica compleja) es complejo en el sentido de que tiene dos componentes, uno en fase con la velocidad de calentamiento modulada (C_p') y la otra fuera de fase (C_p'') definido como:

$$C_{p_{PCR}} = C_p' = C^* \cos\varphi \quad (84)$$

= Capacidad calorífica reversible de la fase corregida

$$C_{p_K} = C_p'' = C^* \sin\varphi = \text{Capacidad calorífica cinética} \quad (85)$$

$$C_p^* = \left(\frac{\partial S}{\partial T} \right)_{\zeta} T + \left(\frac{\partial S}{\partial \zeta} \right)_{T,P} \left(\frac{\partial \zeta(t)}{\partial T} \right) \quad (86)$$

En C_p^* de la ecuación 86, el primer término del lado derecho corresponde a la capacidad calorífica estática o en fase (C_p') y el segundo término a la capacidad calorífica dinámica o fuera de fase (C_p''). En este sentido, se considera más apropiado establecer el flujo de calor total en función al C_p en sus componentes reversible y no reversible. Los términos 'real' e 'imaginario' de la capacidad de calorífica y fase reversible corregida y 'cinéticos' son intercambiables.

La Figura 4.44. muestra el comportamiento de las variables analizadas en condiciones cuasi-isotérmicas para carne F, CC y RC en función a la temperatura, donde es posible observar la formación una aparente transición en un intervalo amplio de temperaturas, de 52 a 77 °C, que coinciden con los reportados para las temperaturas de desnaturalización de la miosina, colágeno y actina, respectivamente, en carne de cerdo (Brunton y col., 2006; Bertram, Wu, Van den Berg y Andersen, 2006).

La termodinámica de no equilibrio incluye al tiempo como una variable adicional, en contraste a la termodinámica de equilibrio, que trata con situaciones independientes del tiempo (Wunderlich, 1990), en ella la entropía juega un rol central y nos permite relacionar a los cambios que se presentan en el FC_T con respecto al tiempo con el intercambio o producción de entropía.

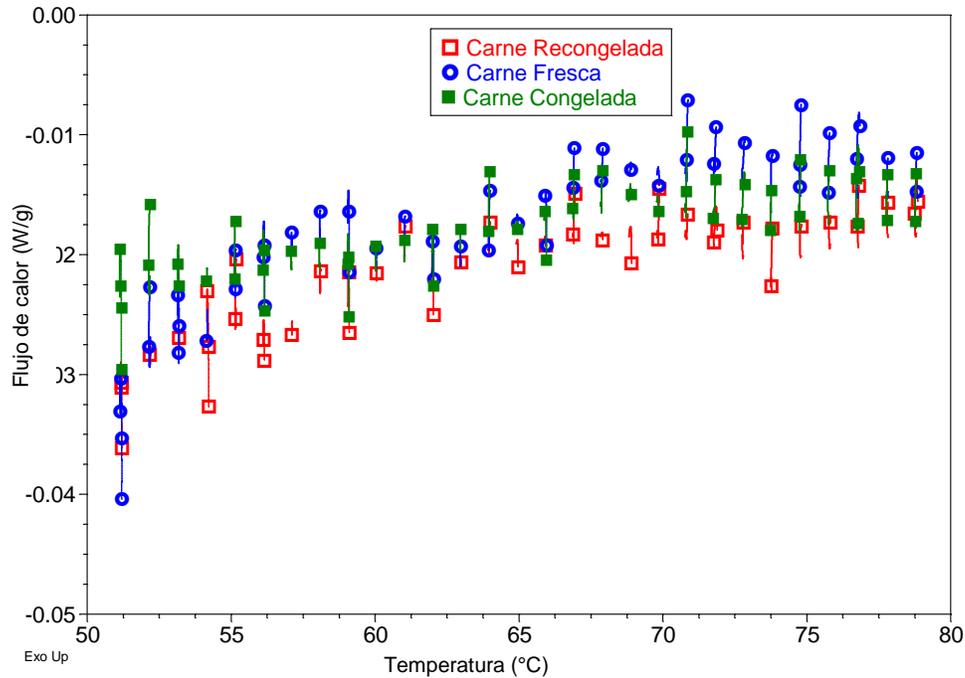


Figura 4.44. Comportamiento de Flujo de calor de muestras de carne en función a la temperatura.

Tomando en cuenta que se trata de un sistema sólido, puede decirse que los cambios son debidos a la inestabilidad en una variable conocida como grados de libertad, los cuales se interpretan como cambios estructurales o de orden de un sistema. En la Figura 4.45. se presenta el comportamiento del FC_T en función al tiempo, donde se puede apreciar que mientras para la carne F y CC existen variaciones importantes, éstas sólo se presentan entre los 50 y 160 min, y que son las que ocasionan el proceso de relajación visto en el FC_T .

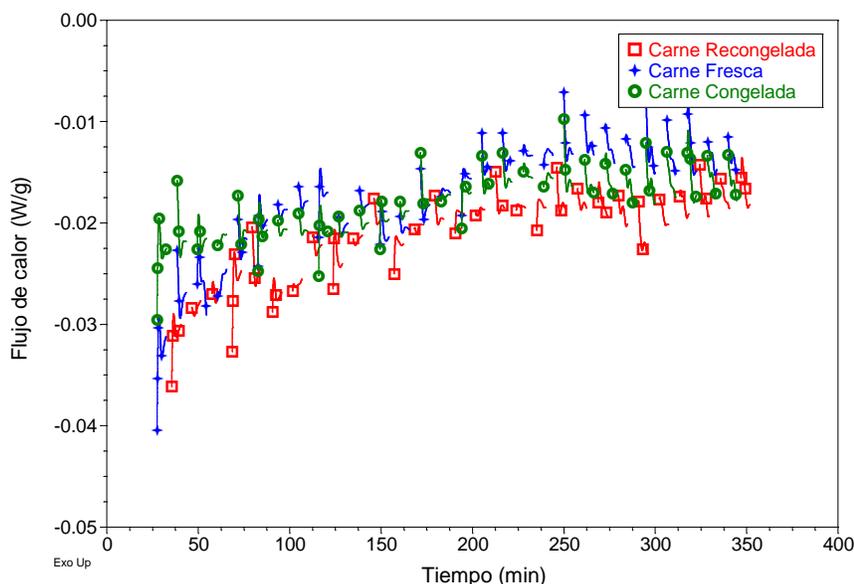


Figura 4.45. Comportamiento de Flujo de calor de muestras de carne en función al tiempo.

IV.2.3.2. Carne liofilizada e hidratada.

El proceso de liofilización consiste en la eliminación del agua contenida a través de una congelación y posterior sublimación a partir de una disminución de presión. Éste proceso permite eliminar el agua libre sin afectar los componentes de ésta, sin embargo, el trabajar directamente con la carne liofilizada eliminaba el efecto de conducción de calor que tiene el agua durante el proceso de calentamiento, por lo que se optó por rehidratarla antes de realizar el análisis por MDSC, con la adición de agua (con peso promedio de muestra de 3.8 mg y 1.9 ml de agua, para un peso promedio de 7.73 mg), el proceso de liofilización permitió alterar de forma significativa la relación proteína-agua, y por tanto evidenciar de forma más representativa el cambio de los componentes de interés.

Sin embargo, la adición de agua y el aumento de temperatura provocan el fenómeno de "colapso". Este fenómeno se define como el reacomodo de la estructura interna de un alimento debido a la presentación de movilidad de los componentes del sistema, con los siguientes efectos sobre la calidad (To, 1978):

1) Flujo macroscópico, que ocasiona apelmazamiento, adhesividad y defectos visuales del producto. 2) Recristalización y 3) Pérdida de componentes volátiles atrapados. El colapso de la estructura amorfa de los alimentos deshidratados produce una ruptura de "bolsas" internas de tamaño molecular o mayor, en las que se encuentran atrapados los componentes del aroma.

La adición de pequeñas cantidades de agua produce un efecto protector, especialmente si el sustrato aún se encuentra libre de productos intermedios y finales de peroxidación. Algunos de los mecanismos que se han sugerido para explicar este efecto protector del agua son los siguientes (Karel, 1979): 1) formación de enlaces de hidrógeno entre agua e hidroperóxidos, que impiden la descomposición de los hidroperóxidos; 2) disminución de la actividad catalítica de ciertos metales (hierro, cobalto, etc.) por su hidratación; 3) reacción del agua con los mismos metales para producir hidróxidos insolubles, lo que los elimina de la fase de la reacción; y 4) retardo de la producción de radicales libres por la presencia del agua.

En la Figura 4.46. se presenta el comportamiento del FC_T (W/g), la C_p (fuera de fase, J/g°C), la fase del flujo de calor ($FC_f = rad$), y la $C_{p_{rev}}$ (J/g°C) para una muestra de carne fresca liofilizada hidratada (F-L-H) en función al tiempo, donde existe una aparente independencia del comportamiento después de los 150 min (62 °C) en el FC_T y en la $C_{p_{rev}}$; en cuanto a C_p y a FC_f se presenta un cruce alrededor de los 100 min ($T = 58$ °C) y un segundo cruce al finalizar el evento a los 340 min correspondiente a $T = 79$ °C), cabe señalar que el comportamiento es inverso en estas dos variables, y que estos cambios coinciden nuevamente con las temperaturas de desnaturalización de las principales proteínas.

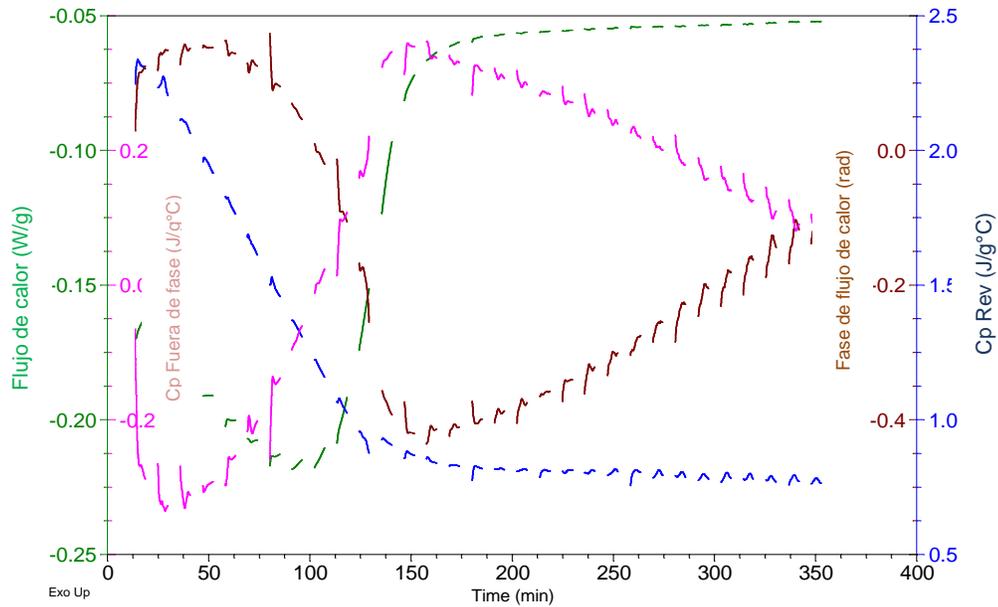


Figura 4.46. Comportamiento de variables en análisis quasi-isotérmico en carne fresca liofilizada e hidratada.

Para un mejor análisis se separaron algunas de las respuestas para hacer las comparaciones entre las muestras tratadas térmicamente. En la Figura 4.47. se compara el comportamiento del FC_T en una muestra de carne F-L-H, CC-L-H y RC-L-H, donde se observan temperaturas de transición de 55 a 63 °C y 65 a 75 °C correspondientes a temperaturas de desnaturalización de miosina y colágeno; existe también una traslape de las curvas en el caso de muestras de carne F-L-H y CC-L-H. Se determinó una ΔH de transición de 56.6 y 56.7 J/g. Estos resultados demuestran que el efecto de una congelación lenta no es significativo, ya que la interacción a proteína - agua no presenta grandes cambios durante el cambio de fase; sin embargo, no sucede lo mismo al recongelar, ya que una sola transición se lleva a cabo casi 12 °C más arriba que en los otros dos casos. Esto se puede explicar, porque los componentes de carne después de la recongelación podrían ser más susceptibles, por efecto de la redistribución del agua durante el proceso de descongelación, retardando la temperatura de desnaturalización del colágeno, la miosina y la actina.

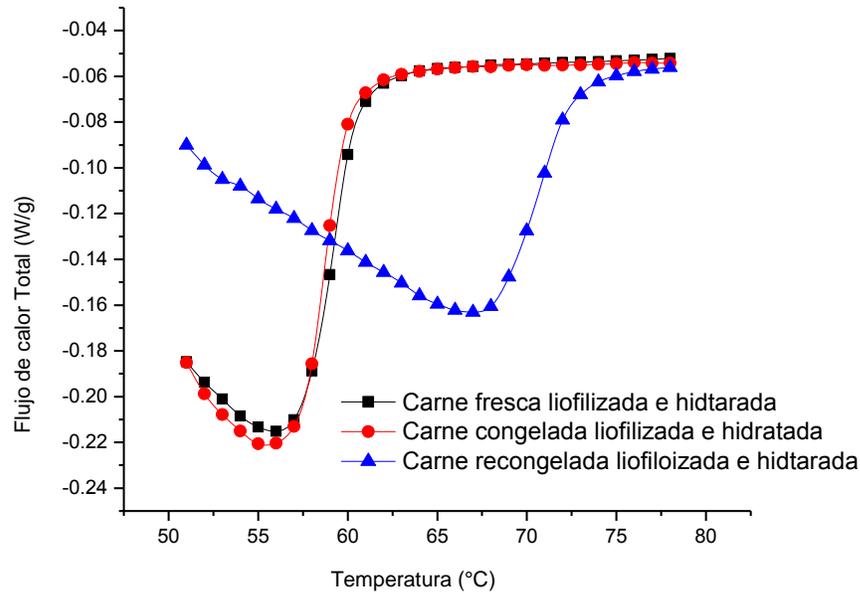


Figura 4.47. Comportamiento del flujo de calor total para las muestras frescas, congeladas y recongelada liofilizadas e hidratadas.

En función a lo reportado por Wright y Wilding (1984), se atribuye la modificación en el patrón de comportamiento en la recongelación, principalmente a la miosina puesto que, las cabezas globulares, la región intermedia y colas helicoidales de la molécula en carne de conejo difieren considerablemente en su estructura, presentando tres transiciones principales asociadas con la desnaturalización térmica.

En forma indirecta, los cambios estructurales de la carne se pueden determinar por medio de la capacidad calorífica, por lo que en la Figura 4.48. se muestra el comportamiento del C_p en las muestras, donde se observaron cambios continuos en el intervalo de 45 a 85 °C, con un cambio máximo de alrededor de 80 °C, con curvas de comportamiento muy similares en la CC-L-H y RC-L-H y F-L-H y RN-L-H; sin embargo, se presentó una reducción en el valor de C_p en F-L-H y RC-L-H.

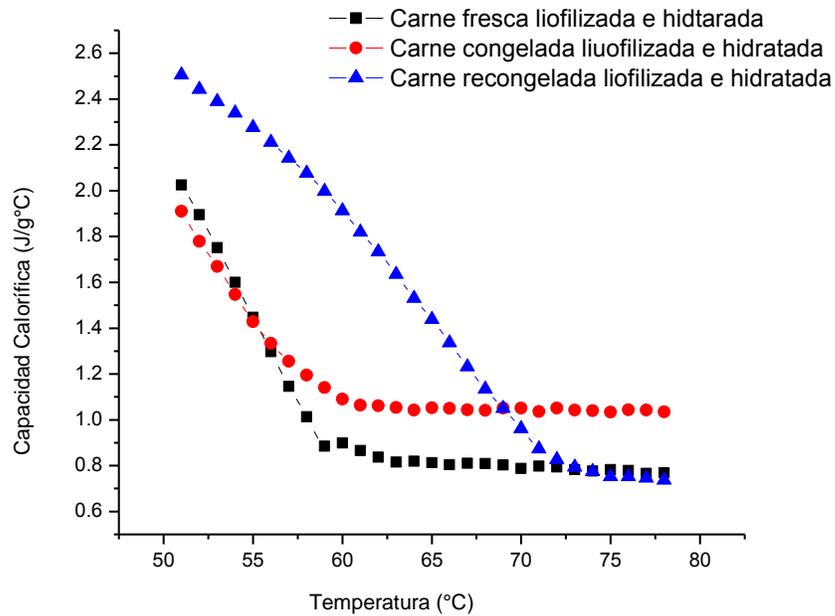


Figura 4.48. Comportamiento de la capacidad calorífica para las muestras frescas, congeladas y recongelada liofilizadas e hidratadas.

IV.2.3.3. Ángulo de fase del Flujo de calor para carne.

La Figura 4.49. muestra el comportamiento de la fase de FC_T , que es el ángulo de fase entre el flujo de calor y velocidad de calentamiento. Este concepto considera que durante una corrida experimental la modulación del FC_T no sigue la modulación de la velocidad de calentamiento, debido a un evento térmico en la muestra que puede generar o absorber una cantidad considerable de energía, alterando la respuesta (Reading y Hourstone, 2006). Por lo tanto, es posible asumir que este ángulo de fase será cero en esas zonas que no presentan ninguna transición y por lo tanto, alguna alteración en el grado de cambio será el efecto de un evento cinético o estructural en muestras de carne, en este caso la carne RC-L-H presenta un comportamiento diferente a la F-L-H y CC-L-H, las variaciones del perfil en la carne recongelada significaría que los cambios están produciendo en la muestra por efecto del tratamiento térmico y afectan directamente a la respuesta de la fase del flujo de calor, debido a la absorción de la energía, ya que la interacción del agua - proteína es alterada por efecto de redistribución de agua durante la

recongelación. Así, el reordenamiento de las proteínas será con un mayor vínculo de las estructuras que requieren una mayor absorción de energía durante el proceso de calentamiento.

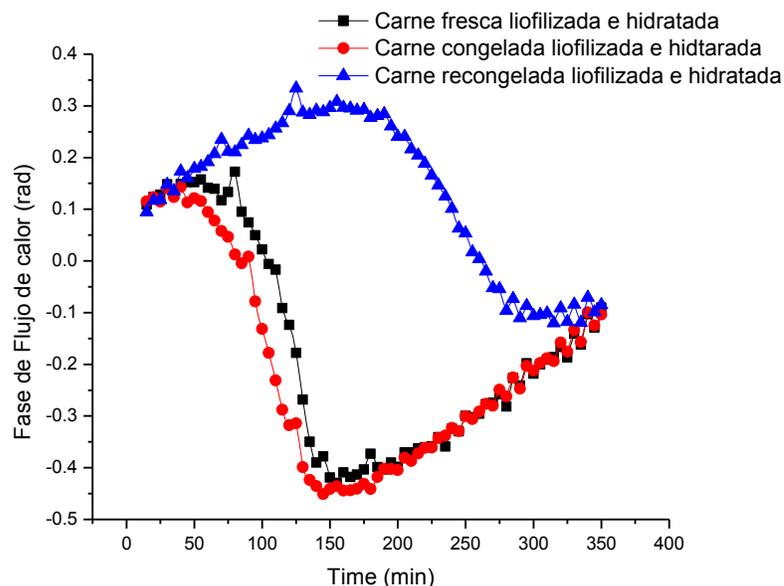


Figura 4.49. Fase de flujo de calor en carne fresca, congelada y recongelada; liofilizadas e hidratadas.

Carne F-L-H, el componente de FC_T muestra una ligera transición a 59 a 71 °C; el ángulo de fase permite ubicar al menos siete eventos de interés en las temperaturas, 55, 56, 59, 62, 64, 66 y 71 °C. Estas temperaturas concuerdan con las reportadas para la desnaturalización de la miosina, colágeno y actina a 54, 65 y 77 °C, respectivamente, de carne de cerdo (Bertram y col., 2006; Burton y col., 2006).

La Figura 4.50. muestra la comparación de ángulo de fase y $C_{p_{rev}}$. Observamos que la C_p sigue un comportamiento similar al de la fase del FC_T , con un valor menor en temperaturas entre los 60 y 75 °C para cada muestra y es el mismo que al final del cambio de pendiente en la capacidad calorífica (C_p). Regularmente, este tipo de comparaciones entre el ángulo de fase y $C_{p_{rev}}$ se utilizan para estudiar los procesos de vitrificación y cristalización en sistemas poliméricos (Reading y col., 2006; Miltner y col., 2006).

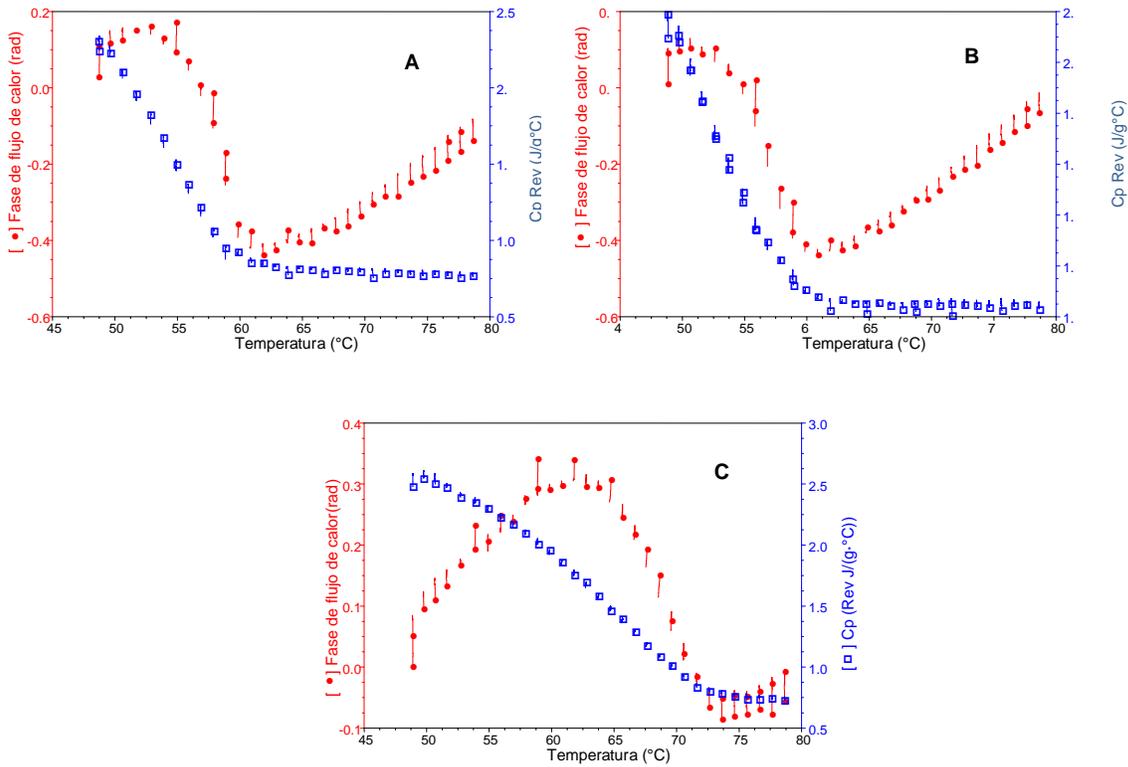


Figura 4.50. Cp reversible y Fase de Flujo de calor. (A) Carne fresca (B) Carne congelada y (C) Carne recongelada; liofilizadas e hidratadas.

La magnitud del cambio es diferente; para carne F-L-H es 1.43 J/g°C, para CC-L-H 1.04 J/g°C a 60 °C y en el caso de la RC-L-H 1.732 J/g°C a 75 °C. Como la $C_{p_{rev}}$ está relacionada con el cambio estructural y está basado en calor reversible, la capacidad calorífica está estrechamente relacionada con la estructura del material, y por lo tanto, los requerimientos de energía para producir cambios en el material, se puede establecer que los efectos debidos a la congelación de carne sólo provocan pequeñas modificaciones estructurales, sin embargo, el proceso de recongelación parece cambiar sustancialmente y aumentar el número de cambios estructurales con un retraso dado por la fase lag.

Los cambios en el $C_{p_{rev}}$ sin cambio de fase están relacionados con las transiciones de segundo orden como es la transición vítrea, lo que confirma que la desnaturalización de las proteínas es una transición de segundo orden con una discontinuidad en la capacidad calorífica, que no llega a ser infinita, como una transición de primer orden (Ross, 1995).

Se puede interpretar que la reducción de la señal en el ángulo de fase, disminuye la energía de absorción, debido a la reorganización molecular de proteína durante el calentamiento, siendo ésta una evidencia de su desnaturalización. La carne RC-L-H inicialmente muestra un valor significativo en la fase de flujo térmico, cuyo pico máximo coincide con que parece ser una menor pendiente en la $C_{p_{rev}}$ alrededor de 50 y 60 °C, intervalo donde se encuentra la desnaturalización de la miosina.

La Figura 4.51. muestra la C_p'' , que es el C_p cinético o $C_{p_{norev}}$ para muestras estudiadas, las muestras de carne F-L-H y CC-L-H presentaron perfiles similares con magnitudes de cambio desde - 0.4 a 0.5 J/g°C. El orden de magnitud de C_p'' es mucho menor que la $C_{p_{rev}}$, sin embargo, este parámetro es un buen indicador de eventos tales como la desnaturalización de proteínas por efecto de las aplicaciones de baja temperatura. En las muestras recongeladas, de acuerdo con los resultados mencionados anteriormente, se observan cambios con retrasos de perfiles para un menor requerimiento de energía utilizando hasta 100 minutos para el mismo cambio relacionados con muestras F-L-H y CC-L-H.

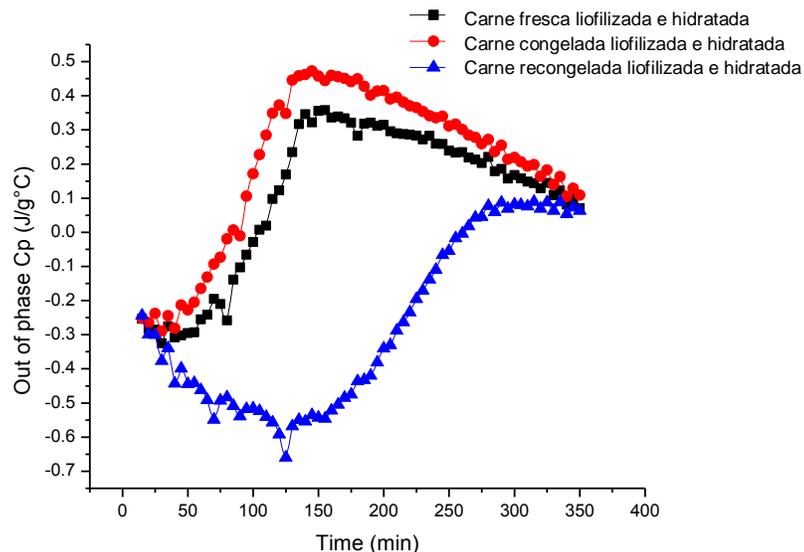


Figura 4.51. Comportamiento de C_p fuera de fase para carne fresca, congelada y recongelada; liofilizadas e hidratadas.

El método de análisis cuasi isotérmico en MDSC, confirma la presencia de importantes cambios en la proteína de carne liofilizada e hidratada después del proceso de congelación y recongelación. Se observan importantes variaciones en el FC_T y $C_{p_{rev}}$ en el intervalo de 50 a 75 °C. Las muestras rehidratadas permitieron observar la reacción de desnaturalización con una temperatura de modulación baja y con incrementos de 1 °C durante las corridas experimentales, así como el efecto de la movilidad continua de agua, particularmente en el caso de la recongelación. Se muestra que la miosina se ve afectada principalmente por los procesos a bajas temperaturas.

Por otro lado, la contribución que proporciona la señal de fase del FC_T y C_p , permitió un estudio más detallado de sistemas de reacción en función del tiempo de proceso; permite visión única de la estructura y el comportamiento de los alimentos, por lo que los parámetros pueden ayudar a identificar eventos térmicos como la desnaturalización de proteínas de la carne y las temperaturas de transición en el que el FC_T es mayormente afectado por un evento que acelera o retarda las relacionadas con una velocidad de calentamiento dada.

IV.3. RESULTADOS DEL OBJETIVO PARTICULAR 2.

Para determinar los cambios enzimáticos y de composición asociados al proceso de congelación a dos velocidades y el efecto de la recongelación para establecer los daños causados en la carne, se siguió la metodología presentada en el punto III.2.3.

IV.3.1. Determinación de perfiles de temperatura para velocidad de congelación y difusividad térmica.

Los tiempos de congelación con espesor de 2 cm en rebanadas de carne en promedio fue de 79 min para en cámara congelación y 5.5 min en $N_{2(L)}$, con una temperatura inicial del proceso de -1.4 °C y temperatura final hasta -10 °C en ambos métodos, representando una velocidad local de congelación de 0.1089 ± 0.27 °C/min

y 1.5636 ± 3.12 °C/min; 14.36 veces mayor la velocidad local de convección forzada.

La representación gráfica de los perfiles de temperatura en congelación de ambos métodos se presenta en la Figura 4.52., cabe resaltar que aunque la congelación con $N_{2(L)}$ no se puede clasificar como una congelación en placas, si se encuentra entre los sistemas de contacto indirecto que aprovecha las propiedades del refrigerante como son su punto de ebullición (-195.8 °C a 1 atm) y su calor latente de vaporización (198.38 kJ/kg) que permite esta alta velocidad local. Por otra parte debido a su alto coeficiente de expansión térmica de 646 (1/°C), el $N_{2(L)}$ líquido es capaz de desplazar al O_2 (Goswami, 2010).

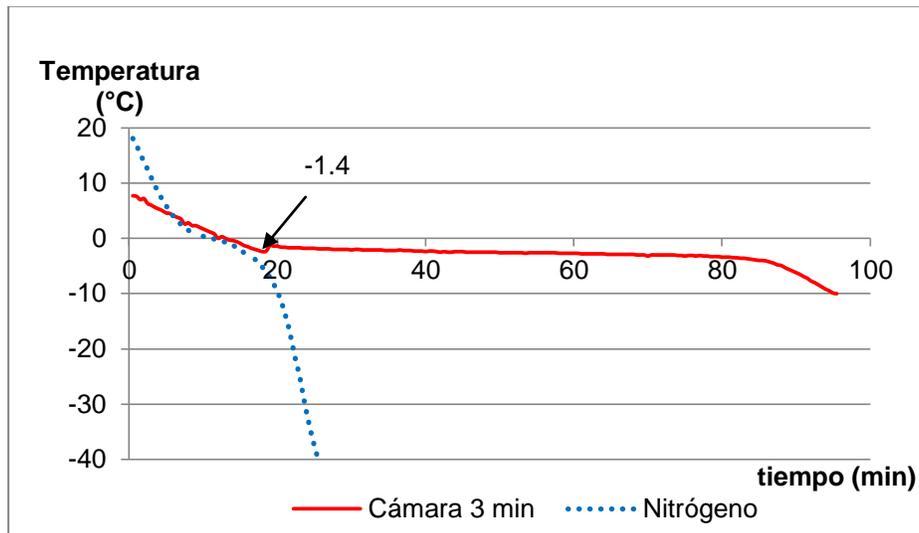


Figura 4.52. Perfiles térmicos de congelación en cámara de convección forzada y contacto indirecto en Nitrógeno líquido.

En la congelación criogénica, se tiene un pequeño coeficiente de transferencia de calor pero un gran ΔT , lo que implica un menor requerimiento de energía. Desde el punto de vista de la calidad, la aplicación de $N_{2(L)}$, ha sido estudiada por varios autores como Gutschimdt (1969), Piskerevel y colaboradores (1969), reportados por Nusbaum y colaboradores (1983) que demostraron superioridad de la congelación con líquidos criogénicos que la congelación con aire.

En la Figura 4.53. se presenta el gráfico de perfil de temperaturas como un ejemplo de la congelación, descongelación y recongelación. La etapa de enfriamiento, desde una temperatura inicial de 7.6 °C a la nucleación (-2 °C) se llevó a cabo en 18 minutos; 2 minutos para llegar a PIC (-1.4 °C), la etapa de congelación hasta -9.5 °C en 75 min; la descongelación hasta 2.7 °C en 68 min; el re enfriamiento hasta la nucleación (-3 °C) se realizó en 9 min; al PIC en recongelación (-2 °C) en 3 minutos y la etapa de recongelación a -9.9 °C, correspondió a 70 minutos. La velocidad de recongelación fue prácticamente la misma, 0.1082 ± 0.14 °C/min.

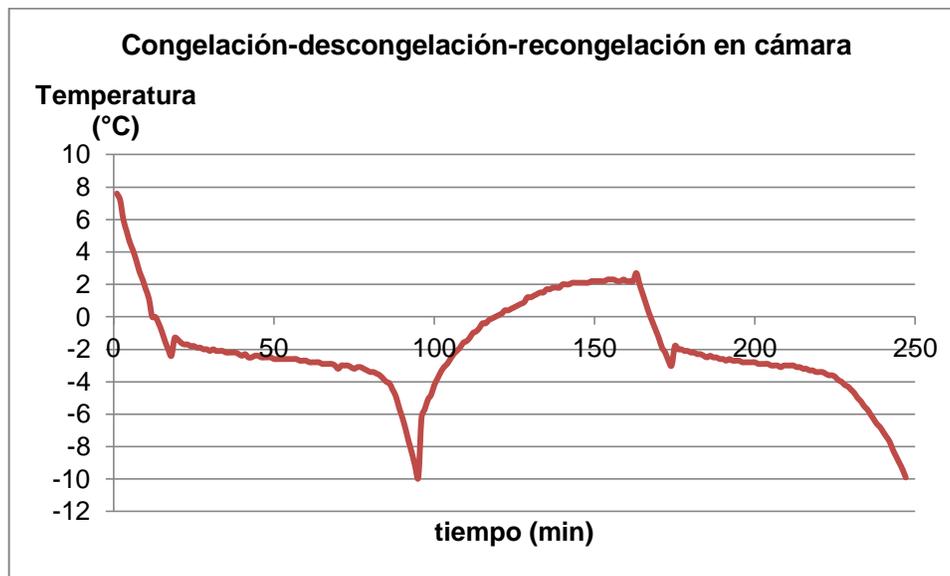


Figura 4.53. Perfiles térmicos de congelación – recongelación en cámara de convección forzada.

La difusividad térmica caracteriza la rapidez con la que varía la temperatura ante un cambio térmico, por ejemplo, ante una variación brusca de temperatura en la superficie. En los alimentos en general ha sido determinada utilizando las ecuaciones empíricas como la de Riedel que incluye el contenido de agua del producto y la difusividad térmica del agua a la temperatura deseada y la de Martens que incluye un factor de predicción de temperaturas absolutas (Jaramillo-Flores y Hernández-Sánchez, 2000). Sin embargo, el análisis de esta propiedad se ha enfocado a los

cambios más importantes en la transición de fase durante la congelación, donde la difusividad refleja la transformación del agua en hielo y considera que la eliminación de calor latente y sensible sucede en el mismo intervalo de temperaturas. Después del PIC, hay una reducción como resultado de la contribución del calor latente, lo que no ha sido reportado a la fecha.

Mohamed (2010) presenta valores de difusividad térmica de carne magra de 4.0×10^{-6} a $1.71 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$, y Huang y Liu (2009) de 1.095×10^{-7} , de 1.138×10^{-7} para carne vacuna, y de 1.524×10^{-7} para pechuga de pollo; la gran variabilidad podría atribuirse a la diferencia en la composición como es el contenido de humedad y grasa o bien, al corte de carne, la edad del animal y la orientación de fibra entre otras variables.

En la Figura 4.54., se presentan los resultados obtenidos para la difusividad térmica en la congelación de la carne con espesor de 1 cm obtenida a partir de la congelación indirecta con Nitrógeno, donde puede observarse una dependencia con respecto a la temperatura, aquí mismo se muestran los intervalos de confianza y la ecuación de predicción que se ajusta al 95 % a comportamiento polinomial.

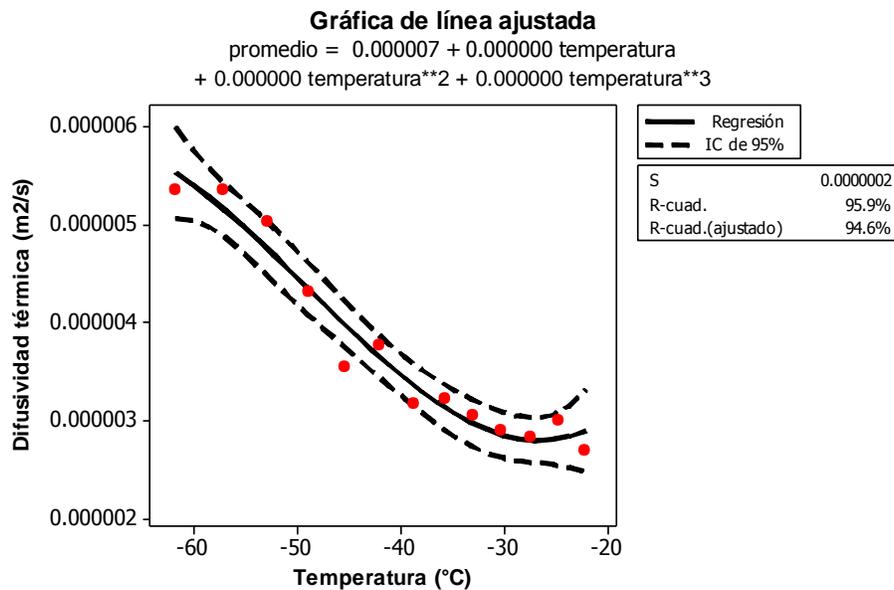


Figura 4.54. Difusividad térmica de carne a temperaturas de congelación.

El efecto de la temperatura fue determinado por Farag y colaboradores (2008) en tres mezclas de carne de vacuno, las cuales se vieron influenciadas cuando la temperatura aumentó de -18 a -5 °C (9.64×10^{-7} y 1.24×10^{-7} a -18 y -5 °C, respectivamente). El mismo efecto fue observado de -20 a -15 °C, con valores de $5,96 \times 10^{-7}$ y 2.26×10^{-7} . De -5 a 0 °C, se encontró mayor dependencia de la composición que de la temperatura como en la mezcla de 50:50 de grasa y carne magra con valor de difusividad de 0.38×10^{-7} . James y James, 2002 reportaron un valor de $4 \times 10^{-7} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ para una temperatura de congelación de -18 °C en carne magra de cerdo con contenido de humedad de 73.3 %.

IV.2.3. Cambios enzimáticos.

IV.2.3.1. Compuestos hémicos.

La concentración de compuestos hémicos de la mioglobina para los diferentes tratamientos térmicos, así como para la muestra testigo a 3 diferentes condiciones se presenta en el Cuadro 4.17.

Cuadro 4.17. Cambio de concentración de mioglobina por diferentes tratamientos térmicos.

Muestra de carne		Concentración (mg/g musculo)		
		Media	Desviación estándar	C. V. %
F	25 °C	19.95	3.14	15.76
	5 °C	18.605	5.26	28.296
	0 °C	18.38	1.62	8.806
	Promedio	19.07	3.25	17.07
CC		25.68	7.83	30.48
CN		18.04	4.73	26.20
RC		22.20	3.76	16.93
RN		20.23	3.16	15.60

F= carne fresca; CC= carne congelada en cámara de convección forzada; CN= carne congelada por contacto indirecto en Nitrógeno líquido; RC= carne recongelada en cámara de convección forzada y RN= carne congelada en Nitrógeno líquido y recongelada en cámara.

Autores como Gooding y colaboradores (2009), reportaron valores de concentración de ésta proteína en lomos frescos de cerdo, envasados al vacío y almacenados a 4 °C que van desde 1.6-2.0 mg/g musculo que fueron sometidos a diferentes tratamientos como efecto del pH, adición de sales de fosfato, etc. Beriain y colaboradores (2009), trabajaron en *Longissimus dorsi* de novillos de 3 y 7 meses almacenados a 4 °C siguiendo la misma técnica de Hornsey, encontrando cambios en la concentración en función a los días de almacenamiento, iniciando con 12.6 a las 24 h de sacrificio y con valor final a los 14 días de 1.2, lo que hace suponer que los resultados obtenidos en nuestra investigación presentan una secuencia lógica de cambio. Sakata y Nagata (1992), trabajaron en musculo *Longissimus thoracis* a 2 concentraciones de NaCl almacenado a 2 °C por 7 días y midieron pigmentos hemicos determinando que la metamioglobina tiene una relación directa con los valores de “a” en color. El contenido inicial de pigmentos hemicos fueron en promedio: 1.2 ± 0.24 . Por lo anterior, puede decirse que los valores reportados se ven influenciados por el tipo de corte, la raza y los tratamientos previos a los que la carne es sometida antes de la determinación de la proteína.

Cabe resaltar que existen diferencias significativas en los tratamientos (Figura 4.55.) que pueden ser debidas a las variaciones en la dinámica de óxido reducción de la mioglobina, a la penetración de oxígeno y estabilidad de color debido a la orientación de las fibras entre otras variables de importancia ya conocidas (sexo, edad, tipo de sacrificio, etc.) (Faustman y col., 2010).

En la gráfica de caja y bigote se observa la gran variabilidad entre las concentraciones de mioglobina, teniendo la mayor diferencia en la carne congelada y recongelada en cámara de convección forzada y presentándose un valor atípico en la tratada con $N_{2(L)}$, sin embargo, las magnitudes en el cambio indican que esta proteína no es altamente influenciada por la temperatura a la cual fue sometida la carne. En este sentido, Brown and Dolev (1962) estudio el efecto de la temperatura de congelación en soluciones de mioglobina con diferentes buffers, encontrando que la velocidad de oxidación fue más lenta a -5 que a 0 °C. De -10 a -15 °C la velocidad de oxidación aumentó, lo que permite pensar que existe un efecto

significativo de la baja temperatura no en la desnaturalización de la proteína, sino en la posibilidad de oxidación de la misma que propicia cambios de color.

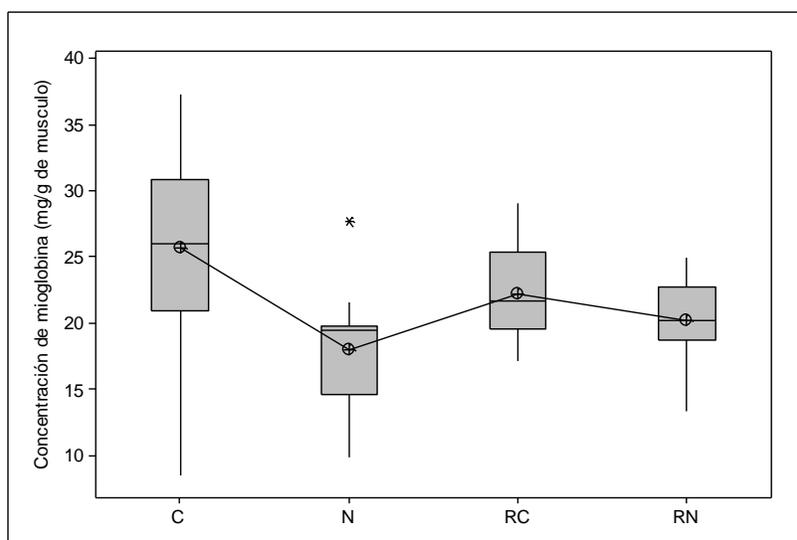


Figura 4.55. Comparación de los cambios de mioglobina debidos a los diferentes tratamientos térmicos.

Jeong y colaboradores (2011) trabajaron con cortes de vacuno congeladas a $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12 h y almacenadas a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ para descongelación y recongeladas bajo las mismas condiciones, determinando pigmentos hémicos con la misma técnica de Hornsey. Encontraron que el contenido de pigmentos disminuyó con el número de ciclos y que en el 7° día de almacenamiento aumentó, postulando que el ión hierro disminuye por rompimiento de la proteína incrementando el contenido de hierro no hémico y que es debida a los ciclos de congelación- descongelación. Así mismo establecen que este ion se debe encontrar como electrolito en los jugos después de la descongelación.

IV.3.2.2. Proteína total.

En la Figura 4.56, se presenta la comparación de los porcentajes de proteína tanto de la carne F como de los diferentes tratamientos térmicos en donde se puede observar que las muestras recongeladas presentaron una mayor variación a pesar de tener los menores porcentajes de proteína, resultado esperado por la pérdida de esta por efecto de la exudación.

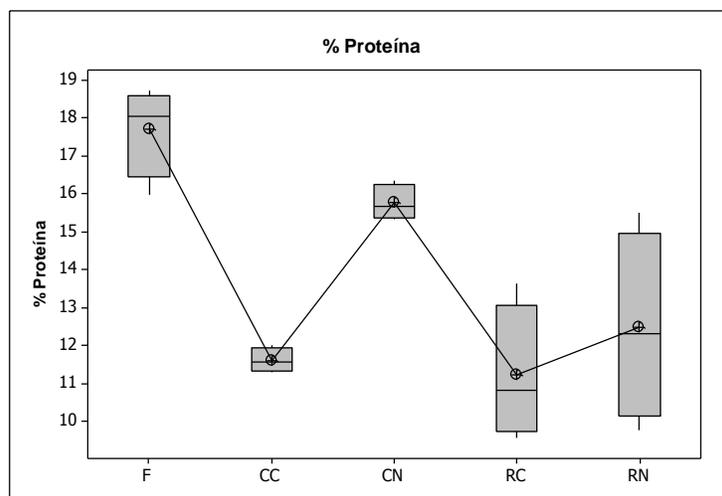


Figura 4.56. Comparación de los cambios de mioglobina debidos a los diferentes tratamientos térmicos.

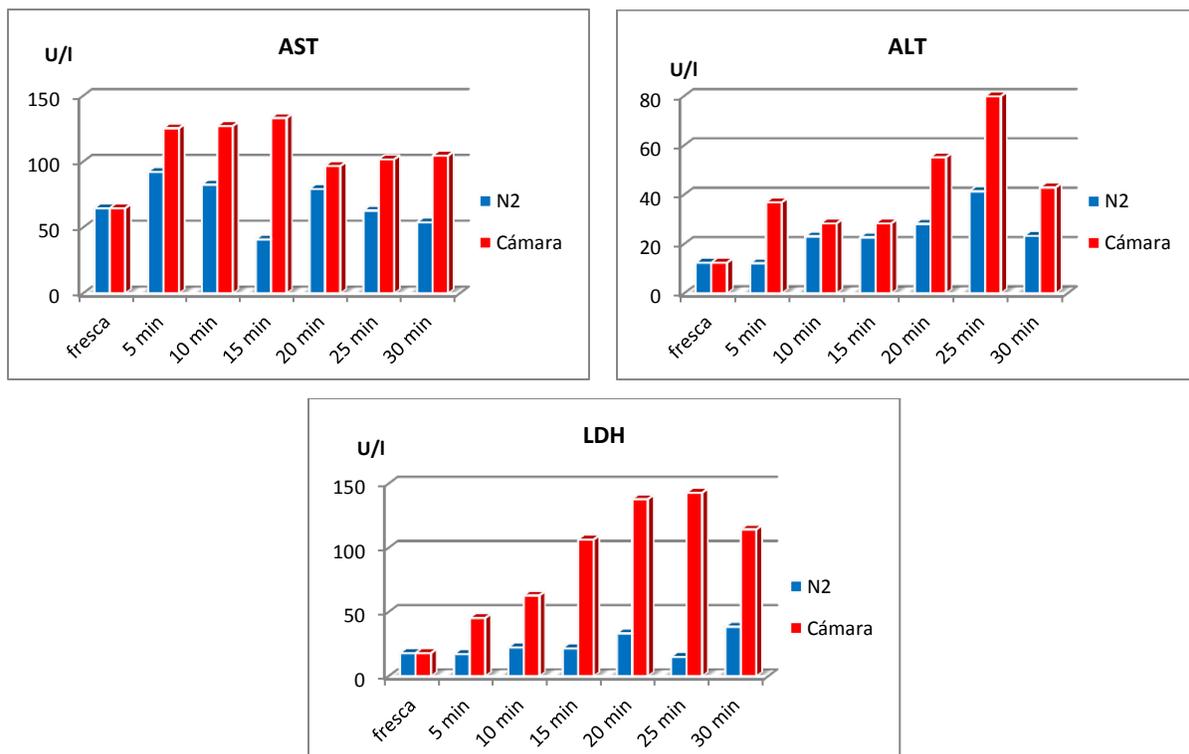
En este sentido, Khan (1986) determinó en pechuga de pollo, que existe diferencia en el contenido de Nitrógeno total y proteico en una congelación rápida por inmersión en mezcla de hielo-metanol a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y lenta en aire a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, (Total = 2.7 mg y 12.4 y 1.9 y 8.7 en rápida y lenta respectivamente); los resultados mostraron que los cambios fisicoquímicos (no enzimáticos) como los enzimáticos ocurren durante la congelación y el almacenamiento. El daño celular y la pérdida de grupos sulfhidrilos de las proteínas son debidos a los cambios no enzimáticos como resultado de la formación de hielo que rompe tejido muscular. Los grupos sulfhidrilos que son destruidos, son los responsables de la integridad estructural y de las propiedades enzimáticas de la miosina, modificando su solubilidad por las fracciones de alanina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina y troponina que se acumulan en Nitrógeno no proteico. Estos residuos de aminoácidos se organizan en el agua y mantienen la hidratación de las proteínas y modifican la configuración espacial de las mismas impactando en la capacidad de hidratación y las propiedades iónicas de la carne.

IV.3.2.3. Enzimas.

En la Figura 4.57. se presentan los gráficos correspondientes a los cambios que sufren las enzimas en función al tiempo de proceso, estudio que a la fecha no se ha encontrado en ninguna publicación. En este sentido, puede apreciarse que se

presenta un mayor daño a nivel enzimático al ser sometida la carne a recongelación en cámara.

Dentro de los métodos de diferenciación entre una carne fresca y descongelada, se utiliza la de distribución de enzimas procedentes de la mitocondria que es afectada por la congelación y es medida por técnicas fotométricas como la aplicada por Ellerbroek, Lichtenberg y Weise (1994). Estos autores utilizaron un kit de pruebas de 19 enzimas, aplicado en musculo *Longissimus dorsi* tanto para carne de vacuno como de cerdo, en estado fresco (almacenadas de 24 a 72 h a 4 °C) y congelada durante 24 h a -18 °C. En su evaluación encontraron diferencias estadísticas entre las carnes fresca y congelada sólo para enzimas 17 (N-acetil-β-glucosaminidasa) para ambas carnes y en cerdo para la 13 (β-galactosidasa) mientras que las restantes enzimas no mostraron diferencias significativas.



AST (Aspartato aminotransferasa), ALT (Alanin aminotransferasa) y LDH (Lactato deshidrogenasa)

Figura 4.57. Comparación de los cambios enzimáticos en función a los tiempos de muestro en congelación criogénica y por convección forzada.

Ballin y Lametsch (2008) establecen que la actividad de la LDH aumentó durante los primeros 30 días de almacenamiento en congelación a -18 °C, pero disminuyó durante los siguientes 60 días. Se observó un incremento inicial en las actividades de la fosfatasa alcalina, y pero la succinato deshidrogenasa no mostró ninguna correlación con el tiempo de almacenamiento. La AST y la ALT mostraron un aumento en actividad, por lo que estas enzimas están siendo consideradas para diferenciar entre una carne fresca y descongelada.

III.3.2.4. Infrarrojo cercano.

Los análisis por espectrofotometría NIR en carne, van encaminados principalmente a la predicción de características de calidad (humedad, grasa, proteína, etc.), sensoriales (color, sabor, firmeza, etc.) y tecnológicas (pH, capacidad de retención de agua, etc.), como lo muestran estudios realizados por Andrés y colaboradores (2008), Ripoll y colaboradores (2008), Prieto y colaboradores (2009) y Monin (1998). En ellos se muestra una buena capacidad de predicción de los valores de humedad para el caso de carne de cerdo, pollo, res, entre otras, con valores de R^2 que van de 0.8 a 0.9 %.

La Figura 4.58. muestra un promedio de los espectros obtenidos para las muestras de carne F, CC y RC; en ellos es posible observar principalmente dos bandas de absorción importantes a 1400 y 1900nm, teniendo los valores más altos de absorbancia a 1422 y 1902nm.

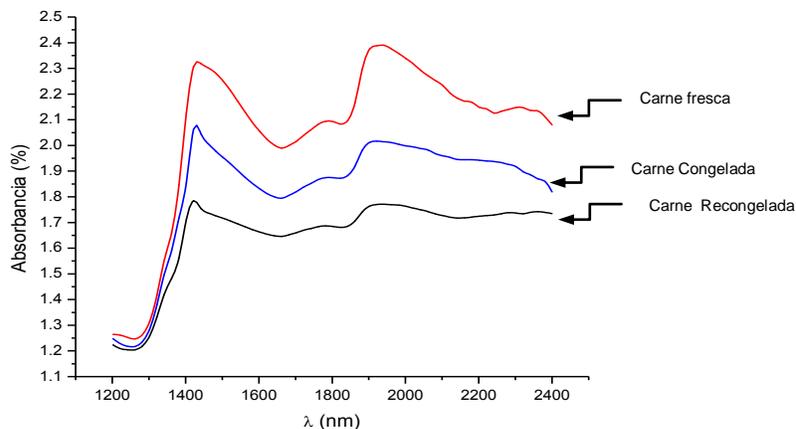


Figura 4.58. Espectro NIR de muestras de carne fresca, congelada y recongelada.

Ripoll y colaboradores (2009) y Andrés y colaboradores (2008) identificaron bandas características de absorción de los enlaces O-H en espectros del infrarrojo cercano a 1400 y 1900 nm, que permiten identificar carnes con diferente contenido de agua (cerdo, oveja, res y pollo).

El agua presenta absorciones en longitudes de onda específicas y normalmente exhibe una banda ancha debido a las interacciones de enlace H consigo mismo y con otros componentes de la carne. Las regiones de 740–760 nm y 960–980 nm están relacionadas con uniones O–H del agua ligada (Uddin y col., 2006). Prieto y colaboradores (2008 y 2009), estiman que la absorbancia específica de uniones O–H está entre 1940 y 1450 nm en el espectro infrarrojo cercano; uniones N–H en 1460–1570 nm y en proteína cruda de 2000–2180 nm y la absorción de uniones C–H de ácidos grasos (1100–1400, 1700)v y de grasa intermuscular entre 2200–2400 nm; el agua también presenta absorciones desde 1900 nm, en 1230–1400 y 1600– 1710 nm, que corresponden, respectivamente, a bandas C–H de matriz secundaria y primaria de proteínas.

En el Cuadro 4.18. se muestran los valores obtenidos de absorbancia para cada muestra, donde se observa una disminución entre la carne F y CC (23 %) y con respecto a la RC, el 11 %, entendiéndose que estas diferencias son debidas a que la congelación produce rompimientos celulares que provoca exudación al descongelarse, en el caso de la recongelación, existe un reordenamiento y redistribución del agua contenida, que parece cambiar por completo los niveles de absorción.

Cuadro 4.18. Valores de absorbancia en carne fresca, congelada y recongelada.

Tipo	λ (nm)	Absorbancia (A)	λ (nm)	Absorbancia (A)
Fresca	1434	2.32	1935	2.39
Congelada	1416	1.78	1935	1.77
Recongelada	1434	2.06	1917	2.01

Algunos estudios, tales como los realizados por Downey y Beauchêne (1997) y Thyholt e Isaksson (1997) mostraron la posibilidad de diferenciar entre muestras de carne fresca y congelada-descongelada de res por espectrofotometría NIR, a través de cambios en la reflectancia total y como consecuencia de propiedades relacionadas a la pérdida de exudados, desnaturalización y daño de las proteínas miofibrilares. El rompimiento celular causado por el incremento del tamaño de los cristales de hielo merma significativamente la capacidad de las proteínas para retener el agua y ocasiona, para el caso de la congelación el decremento significativo en el valor de absorbancia; sin embargo, para el caso de la recongelación, en donde la alteración de la distribución del agua pudiera estar ocasionando interacciones de proteínas en donde antes no las había, implica un reordenamiento de la estructura interna y, por tanto, explicaría el cambio en la forma del espectro, descartando la posibilidad de que el incremento de la absorbancia que se observa, se deba más que a una reabsorción de agua, a un aumento en la capacidad de retención de agua. Esto último, podría relacionarse con los resultados encontrados en el análisis por MDSC en carne liofilizada, pues se observa que la estructura de las proteínas en el proceso de recongelación requieren de una mayor cantidad de energía debido a la aparición de nuevas interacciones o alteraciones de la estructura de éstas.

IV.4. Objetivo particular 3.

Durante el transporte, el almacenamiento o el consumo, ocurren ciclos repetidos de congelación - descongelación – recongelación por fluctuaciones de temperatura, las cuales son muy comunes en la venta al menudeo, en el hogar o en restaurantes, propiciando un deterioro en productos alimenticios como la carne. Estas fluctuaciones de temperatura, fueron analizadas a lo largo del proceso de congelación y principalmente en la etapa de cambio de fase del agua en los 2 métodos de congelación estudiados, enfocando la parte del estudio a los cambios macro y microscópicos.

IV.4.1. Efecto de fluctuación de temperatura en la congelación con convección forzada.

En la Figura 4.59. se muestra el perfil térmico de la congelación de la carne, el comportamiento de las fluctuaciones de la temperatura en la cámara y su coeficiente de variabilidad (CV).

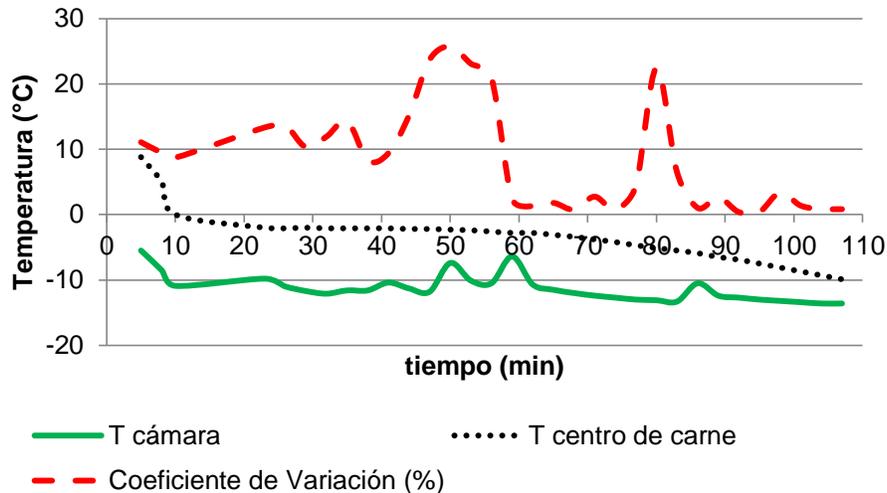


Figura 4.59. Perfiles térmicos de congelación de carne.

El tiempo total del proceso fue de 107 min del cual 23 min (21.4 %) corresponden al enfriamiento hasta el PIC, 72 min (67.29 %) a la etapa de congelación o zona con cambio de fase y crecimiento de cristales hielo y 12 min (11.21 %) al subenfriamiento.

Durante todo el proceso de congelación la temperatura de la carne no igualó la temperatura de la cámara de congelación. El valor promedio de la temperatura inicial de la cámara fue de $-11.30\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un intervalo de confianza al 95 % de -10.60 a $-12.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y con un CV de temperatura entre 0.40 y 26.98 %, variaciones relativas debidas al intercambio térmico por la constante apertura y cierre de puerta. La HR de la cámara presentó un valor promedio de 22.21 % y CV del 73.36 %; estos valores bajos de HR se deben a la relación con la temperatura de rocío, que corresponde al punto de 100 % de humedad o temperatura de saturación (Lee y Ro, 2005).

IV.4.1.1. Color.

El color de la carne fresca es una propiedad importante y un factor de seguridad que influye en la aceptación y adquisición de la misma por los consumidores. Se evaluó el cambio de color en la superficie de la carne de cerdo *Longissimus dorsi* durante la congelación, la descongelación y la recongelación variando los tiempos de muestreo, provocando así una fluctuación de las condiciones de proceso. Se evaluó el cambio de color durante la descongelación a temperatura ambiente. En las Figuras 4.60., 4.61. y 4.62. se presentan algunas de las fotografías captadas para el análisis, estas están en función al tiempo total del proceso que consideró a la congelación, descongelación y recongelación, y a la temperatura en el centro térmico de la rebanada seleccionada para realizar el perfil térmico.

El color $L^*a^*b^*$, es un espacio de color de tres canales donde la L^* se refiere a la luminosidad, a^* se refiere a los niveles de variación entre el rojo y verde y, b^* se refiere al amarillo y azul. Los canales a^* y b^* pueden tener valores positivos o negativos. En el caso de la carne congelada, los valores de a^* y son mayores que en el caso de la carne recongelada, sin embargo en ambos casos sus valores tienden a aumentar pero con velocidad distinta; en el caso de b^* sus valores en congelación son menores pero con comportamiento similar que a^* , mayor velocidad en congelación; en cuanto a la luminosidad durante la congelación, tiende a disminuir al inicio de la congelación, con incremento al final del tratamiento térmico. En la recongelación se presenta un decremento, sin embargo éste parámetro presentó mayores fluctuaciones durante la congelación y recongelación comparado con el índice de rojos y amarillos.

Se consideró conveniente realizar un análisis de diferencia de color (ΔE), una diferencia de matiz o tono métrico (ΔH^*) y de croma o saturación (ΔC^*), ya que la diferencia cualitativa de color en el eje del rojo-verde (a^*), no indica necesariamente que un valor mayor o menor de "a" represente un material más o menos "rojo" que otro y es una forma de análisis no muy utilizada pero si

recomendada por autores como Mancini y Hunt (2005) y Ambil y colaboradores (2000) . Los comportamientos se presentan en la Figura 4.63. a, b y c.

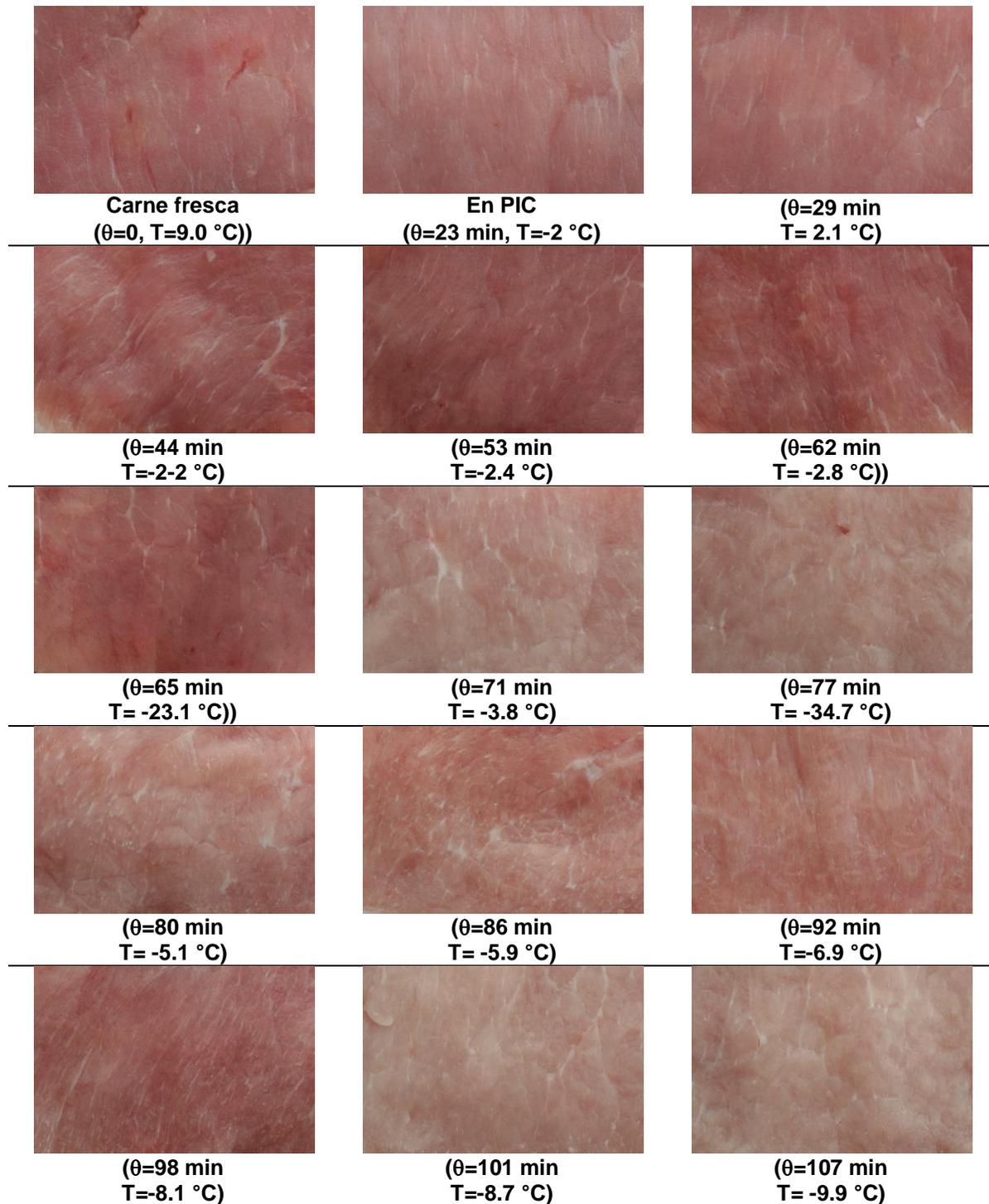


Figura 4.60. Carne en congelación en cámara de convección forzada. Tiempo de muestreo 3 min.

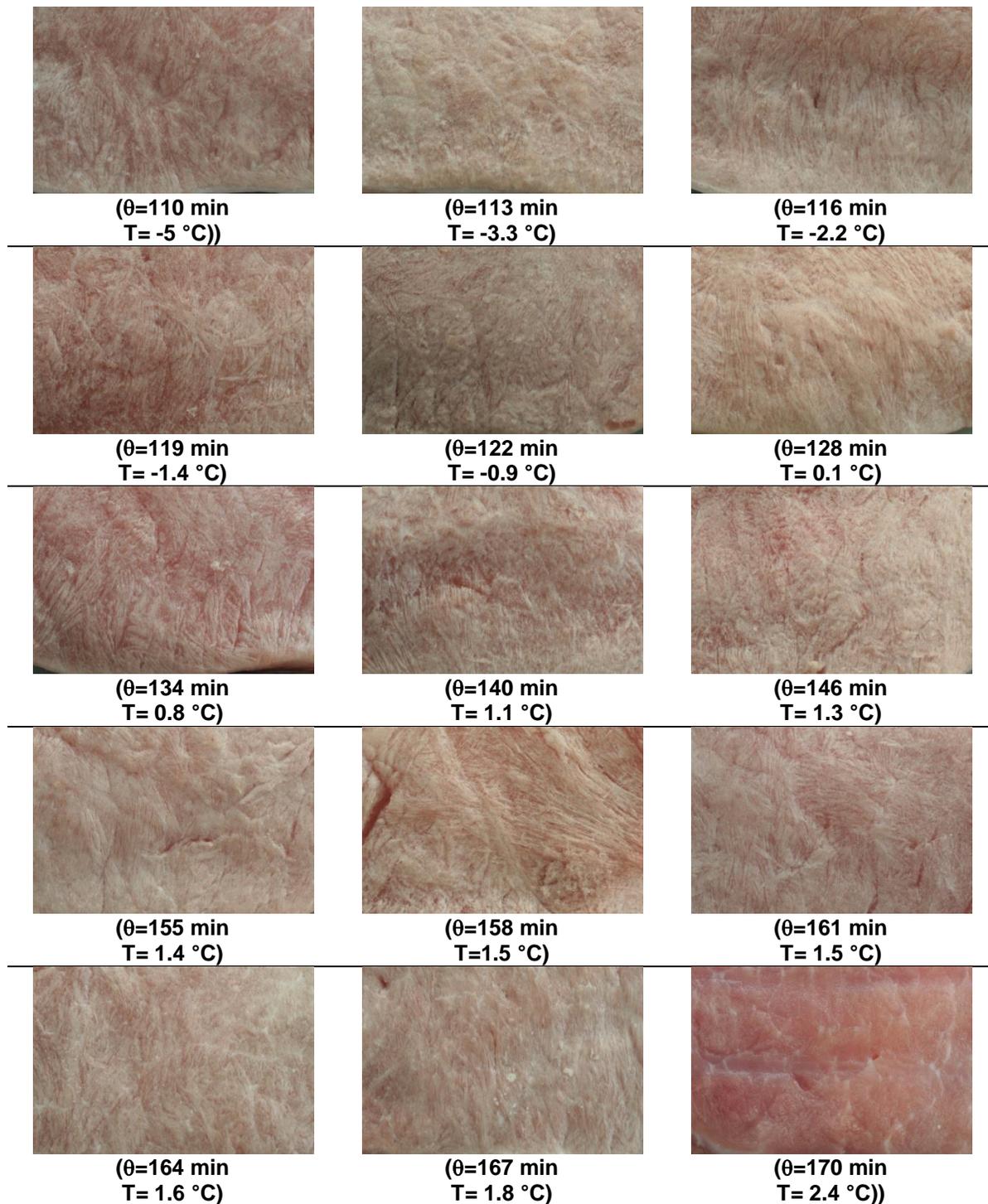


Figura 4.61. Carne en descongelación, Temperatura ambiente. Tiempo de muestreo 3 min.

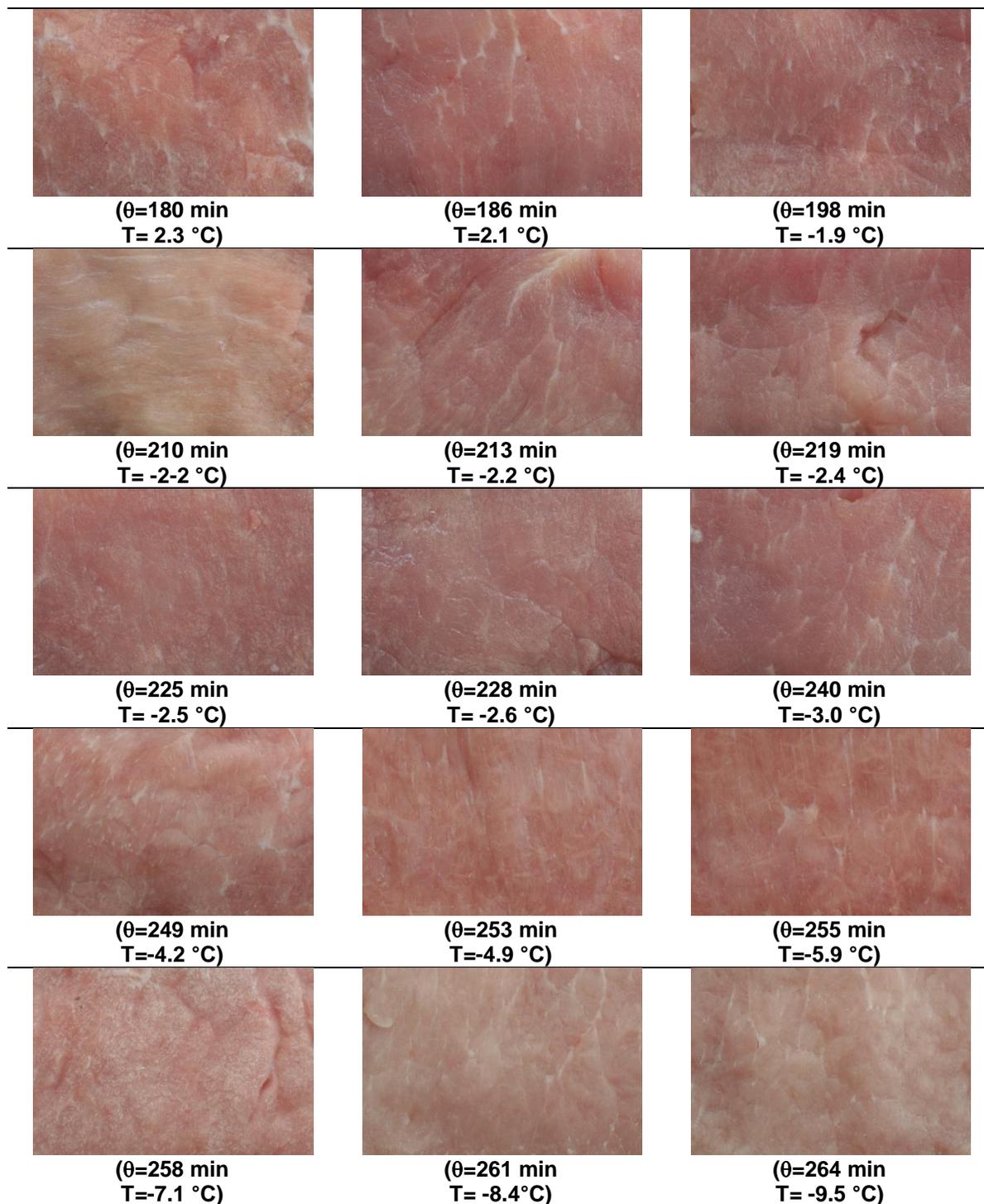


Figura 4.62. Carne en recongelación en cámara de convección forzada.

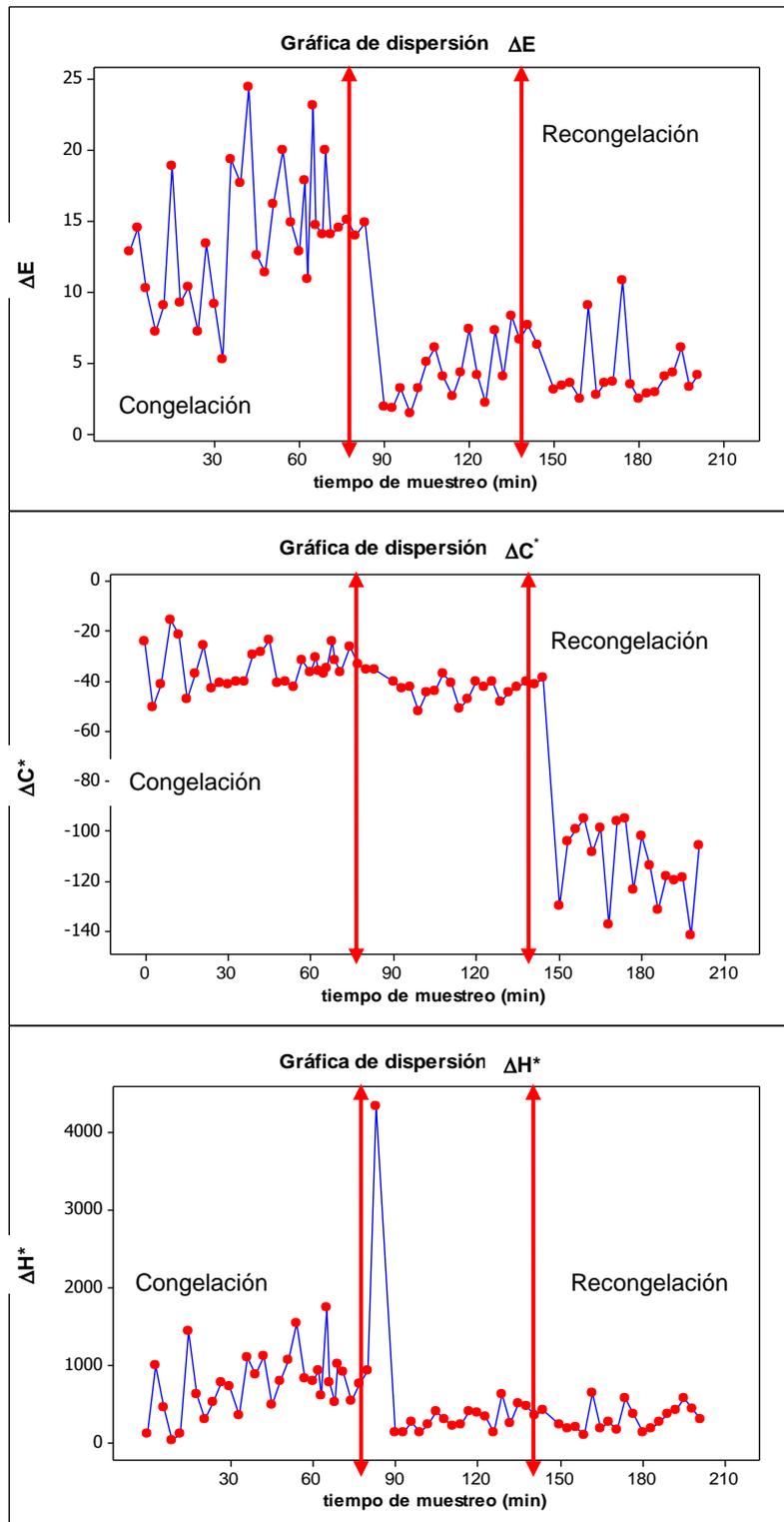


Figura 4.63. Diferencia de color (ΔE), claridad (ΔC^*) y matiz (ΔH^*) en la congelación, descongelación y recongelación con fluctuación de temperatura.

Se encontraron diferencias a medida que transcurre la congelación y la recongelación con bajos coeficientes de determinación, que pueden ser observados en el Cuadro 4.19., esto es debido a que a lo largo de la congelación y recongelación se forma escarcha superficial, lo que modifica el ΔE , y con variaciones en la diferencia del tono métrico (ΔH^*), atribuyendo estos cambios al tomar como referencia a la carne F.

Cuadro 4.19. Comparación de los parámetros de color entre congelación, descongelación y recongelación.

Parámetro de color	Ecuación de Regresión	R ²	Observación poco común	
			tiempo	valor
ΔE	Cong = 10.9 + 0.0707 t(min)	15.2%	42.0	24.411
	Desc = 2.17 + 0.0914 t desc	49.7%	36.0	2.193
	Recong = 4.16 + 0.0036 t recong	0.1%	12.0	9.048
			24.0	10.823
ΔC^*	Cong = - 35.1 + 0.0194 t(min)	0.4%	9.0	-15.17
	Desc = - 44.3 + 0.0499 t desc	4.4%	9.0	-51.921
	Recong = - 105 - 0.314 t recong	11.1%	-	-
ΔH^*	Cong = 301 + 13.0 t(min)	19.1%	83.0	4326
	Desc = 164 + 5.20 t desc	40.0%	36.0	125.5
			39.0	610.2
	Recong = 208 + 3.74 t recong	13.3%	12.0	636.1

Durante la descongelación el comportamiento a temperatura ambiente, ΔE y ΔH^* presentaron comportamiento similar a la recongelación y ΔC^* en congelación, con los mayores valores de coeficiente de determinación, implicando un mejor ajuste en regresión lineal y que se corrobora con los ANOVA presentados en la Figura 4.64.

La mayor parte del cambio de color en la carne de cerdo ocurre durante la congelación, las constantes aperturas de puerta en la cámara producen una inestabilidad en la temperatura de la misma induciendo a la formación de cristales irregulares de mayor tamaño.

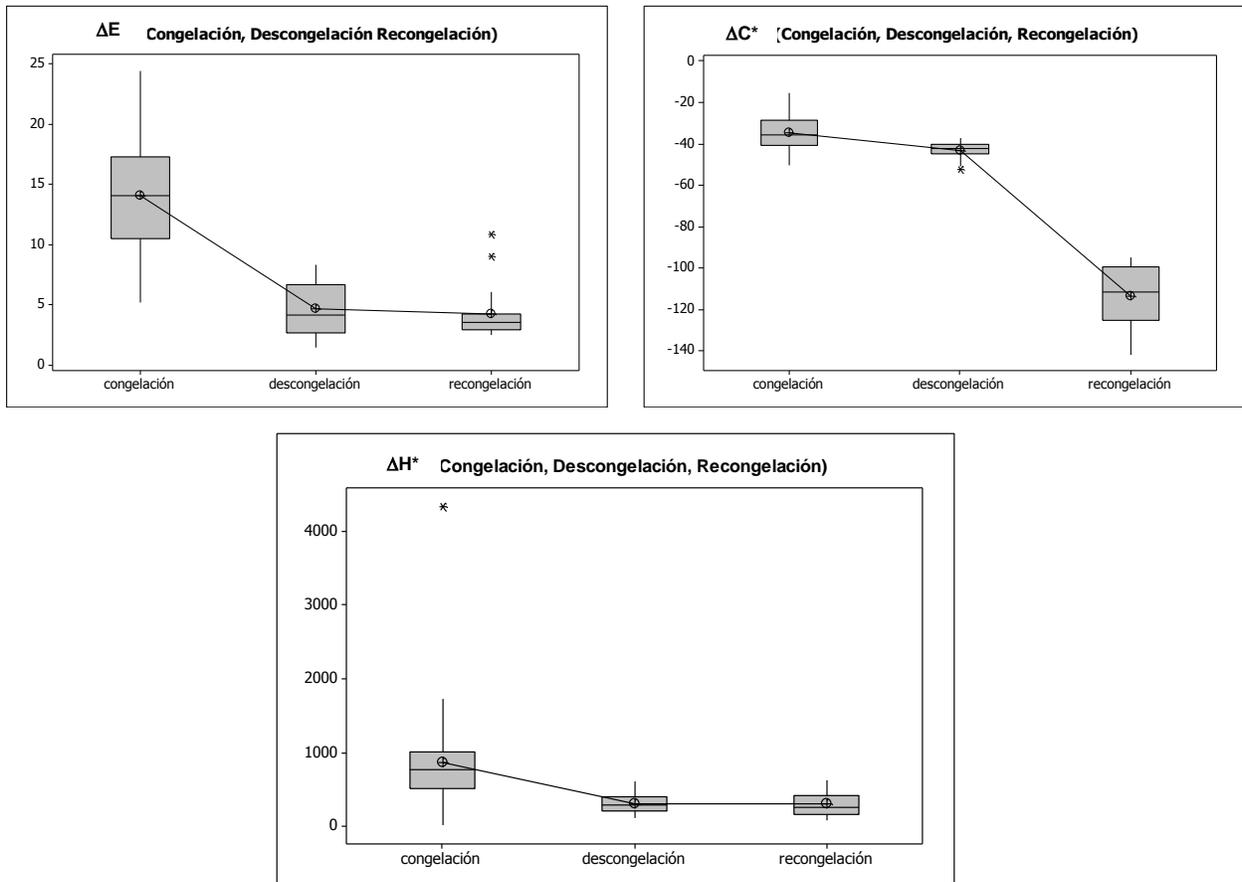


Figura 4.64. ANOVA para (ΔE), (ΔC^*) y (ΔH^*) en la congelación, descongelación y recongelación con fluctuación de temperatura.

Durante la descongelación de la carne se presentan los procesos de oxidación de lípidos y de la mioglobina, lo cual se traduce en un color oscuro. El grado en que este cambio se presente es función de la temperatura del proceso, siendo que la carne descongelada a temperaturas de refrigeración muestran una mayor tendencia a recuperar un color similar al de la carne fresca (F), mientras las carnes descongeladas a temperatura ambiente distan cada vez más al transcurrir el tiempo, con respecto al color de la carne F.

Para el proceso de recongelación se encontró que este no mostró diferencias significativas en cuanto a cambios de color y tono, solo en el caso de la claridad, esto es debido a que el proceso exudativo sigue transcurriendo.

Para la diferencia de tono métrico (ΔH^*) con la carne F es mayor durante la congelación, comparada con la diferencia del color (ΔE), la región de mayor diferencia de tono también se encontró para la fase de formación de cristales de hielo.

Los cambios en color son debidos a cambios moleculares que se aprecian macroscópicamente por una pérdida de la capacidad de retención de agua del músculo y mayor palidez (Zhou y col., 2010). Otros autores como García-Esteban y colaboradores (2003); Brad y colaboradores (2011) evaluaron el color en carne sometida a diferentes tratamientos sin embargo no se pueden hacer las comparaciones pertinentes por no aplicar las técnicas de análisis que se aplicaron en el presente trabajo.

IV.4.1.2. Brillo y reflectancia.

El modo de color HSB está basado en lo que percibe el ojo humano y se describe en tres características fundamentales que son el Tono (H), Saturación (S) y el Brillo (B), éste último es la característica de una sensación visual, según la cual un área parece emitir más o menos luz. Este valor está relacionado con un cierto ángulo (p.e. 20°, 60° ó 85°) y no describe con qué uniformidad se distribuye la luz reflejada en el espacio. El valor del brillo está entre 0 y 100, donde <10 es un brillo bajo, 10-70 es un brillo medio y >70 es un brillo alto, de acuerdo con los estándares más importantes, p.e. ISO 2813, ASTM D 523 y DIN 67530.

En la Figura 4.65., se presentan los resultados del brillo en las tres etapas estudiadas, con un comportamiento que en todos los casos tiene una pendiente negativa (en congelación = -0.0326, descongelación = - 0.0393 y recongelación= - 0.0194), lo que indica que esta variable, conforme transcurre el tiempo el valor promedio tiende a disminuir ya que la superficie va cambiando por la formación de cristales de hielo superficiales no homogéneos en tamaño y forma, perdiendo así la capacidad de reflejar la luz, así mismo los coeficientes R^2 son bajos (congelación = 14.7 %, descongelación= 1.6 % y recongelación= 0.9 %) por lo que el grado en el

que el modelo lineal se ajusta a los datos es bajo, sin embargo en el gráfico de caja y bigote, se observa que en promedio, el brillo es mayor en la descongelación por que existe en casi todo el tiempo una escarcha superficial.

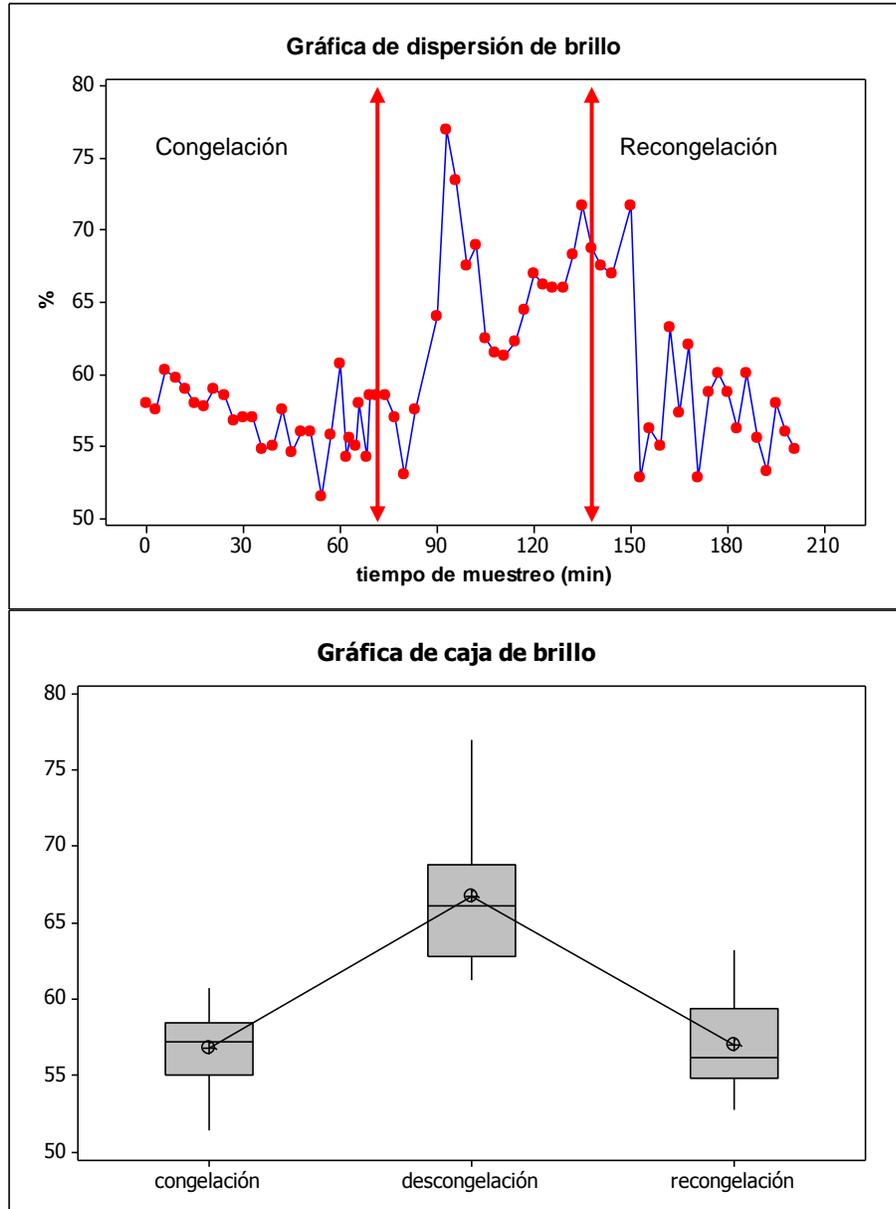


Figura 4.65. Comportamiento del brillo durante la congelación, descongelación y recongelación.

La reflectancia es la proporción de luz reflejada por una superficie y se determina comparando los lúmenes que inciden en ella (iluminancia) con los que refleja (luminancia); en fotometría, es la medida de la reflexión, y se define como la relación entre el flujo luminoso incidente y el flujo luminoso reflejado. Este factor es importante para conocer el grado de iluminación de una superficie, es decir, la superficie de la carne F en su mayoría dominada por un color rojizo deberá reflejar menos flujo que una carne con formación de cristales en su superficie.

Como puede verse en la Figura 4.66. el comportamiento de la reflectancia presenta una tendencia negativa (-0.089), indicando que esta variable, conforme transcurre el tiempo de muestreo tiende a disminuir ya que la superficie va cambiando por la formación superficial de escarcha, perdiendo así la capacidad de reflejar la misma cantidad de luz.

En cuanto al coeficiente R^2 , éste nos indica poca relación entre el tiempo de muestreo y la luminancia ($R^2= 9.1 \%$), relación lógica y esperada, ya que la reflectancia en este caso depende entre otras variables, de la cantidad de cristales formados y la estabilidad de los mismos. El comportamiento lineal entre la congelación y el tiempo de muestreo es 12.9 %, para descongelación y su correspondiente tiempo es de 56.8 % y en recongelación del 18.3 %, por lo tanto el tiempo de muestreo explica la variación en cada una de las observaciones de reflectancia; en todos los casos con pendiente negativa (- 0.0326, - 0.245 y - 0.146, respectivamente) indicando que el cambio en la variable de respuesta cuando el tiempo de muestreo aumenta cambia en una proporción de 0.0326 unidades. Esto es debido como se ha mencionado a la formación de escarcha propiciada por el cambio de las condiciones ambientales al abrir y cerrar la puerta de la cámara de congelación.

En el ANOVA, se presenta en promedio una mayor reflectancia en la etapa de recongelación, pero con valores atípicos superiores, implicando que en algunos casos la respuesta a la iluminación fue alta por efecto de la formación de cristales que reflejan la luz con el mismo ángulo de incidencia que el de reflexión especular o brillo.

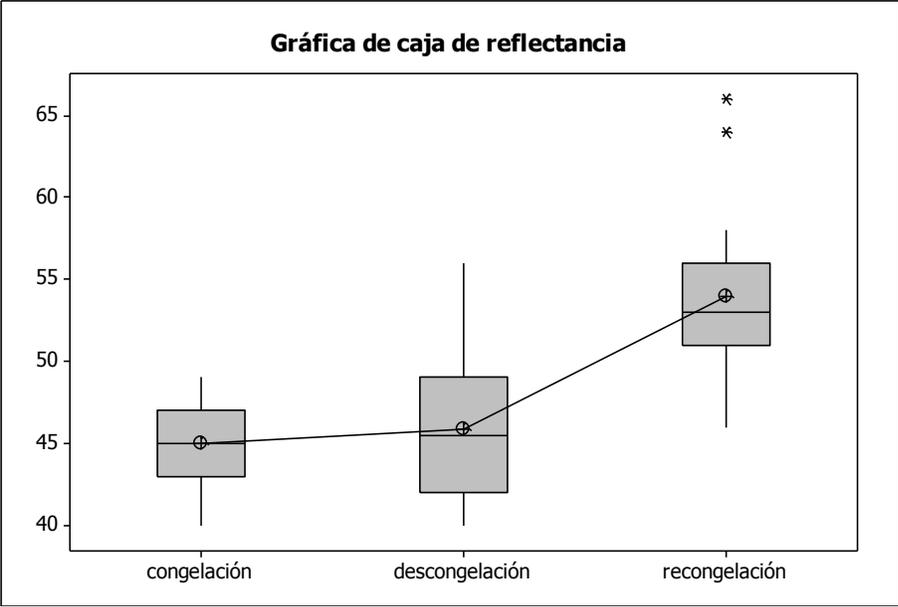
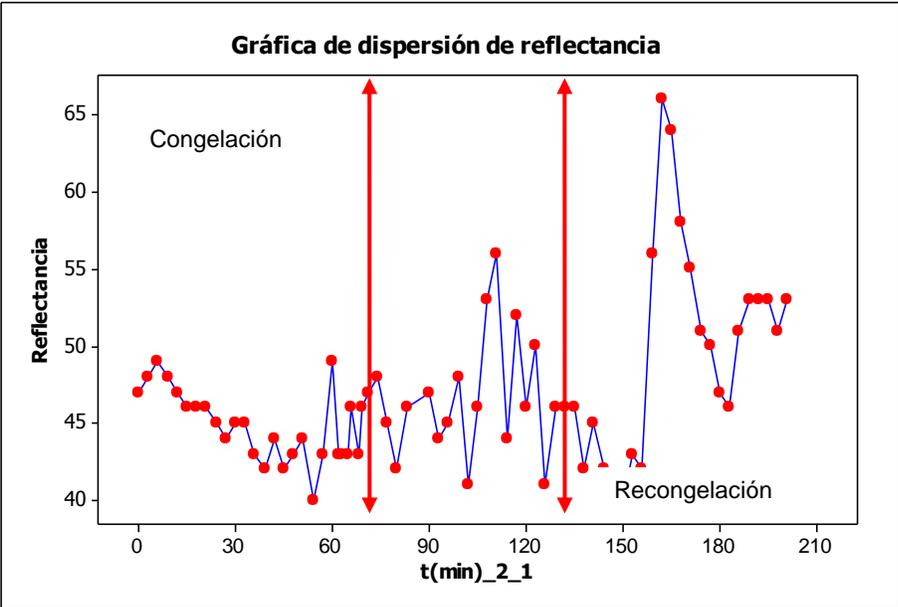


Figura 4.66. Comportamiento de la reflectancia durante la congelación, descongelación y recongelación.

IV.4.2. Análisis morfológico.

El análisis morfológico tenía la finalidad, determinar el daño estructural propiciado por los dos métodos de congelación empleados, la descripción de las actividades realizadas se presentó en el apartado III.2.4.1. Los principales resultados se muestran a continuación.

IV.4.2.1. Congelación en convección forzada.

Las fluctuaciones provocadas de las condiciones ambientales durante la experimentación, promovieron la fusión y recristalización de hielo en los cortes de carne, presentándose daño a la estructura celular y afectando los atributos de calidad del producto, condiciones que en promedio fueron de 48,43% de HR y 25 °C. En éste sentido, Carballo y colaboradores (2000) reportaron que durante la congelación, almacenamiento y descongelación hay una disminución de la funcionalidad de las proteínas de la carne por desnaturalización, modificando su estado de agregación, causando pérdidas de agua y cambio en propiedades texturales. Sin embargo, con los cambios en las condiciones de la cámara se propicia la formación superficial de escarcha, modificándose la estabilidad térmica y los fenómenos relacionados con la transferencia de calor y masa (Gormeley y col., 2002 y Qu y col., 2006), además de la capacidad para enlazar y distribuir el agua durante el proceso y algunas modificaciones sobre compuestos grasos de la carne.

El análisis del daño provocado por el crecimiento de los cristales de hielo se dividió en 2 partes, la primera correspondiente al análisis general y la segunda al análisis en cada condición de muestreo.

En la primera etapa, el área de cada cavidad que fue medida se consideró como una interpretación del alcance del crecimiento de los cristales de hielo durante el proceso de congelación. En la Figura 4.67. se muestra que el aumento del tamaño del cristal fue uniforme con valores de $R=98\%$ para las primeras seis muestras que corresponden a la muestra control, y las muestras tomadas a 5 °C (8 min de proceso de congelación), 0 °C (10 min), -2 °C (PIC a 23 min) y a 26 y 29 min del proceso de

congelación. Este comportamiento se atribuyó a la homogeneidad de la temperatura de la cámara debido a que los tiempos de toma de muestras de carne permitieron la estabilización de la temperatura.

El aumento de tamaño de los cristales de hielo, resulta del hecho de que la energía superficial de los cristales es mucho mayor cuando son de tamaño pequeño; como el sistema tiene tendencia a evolucionar espontáneamente hacia un estado de mínima energía, dado por el cociente superficie/volumen del cristal, los cristales más grandes doblan su tamaño espontáneamente en detrimento de los pequeños, creciendo hasta alcanzar un diámetro máximo o límite de $61\mu\text{m}$ en el caso de carne de vacuno.

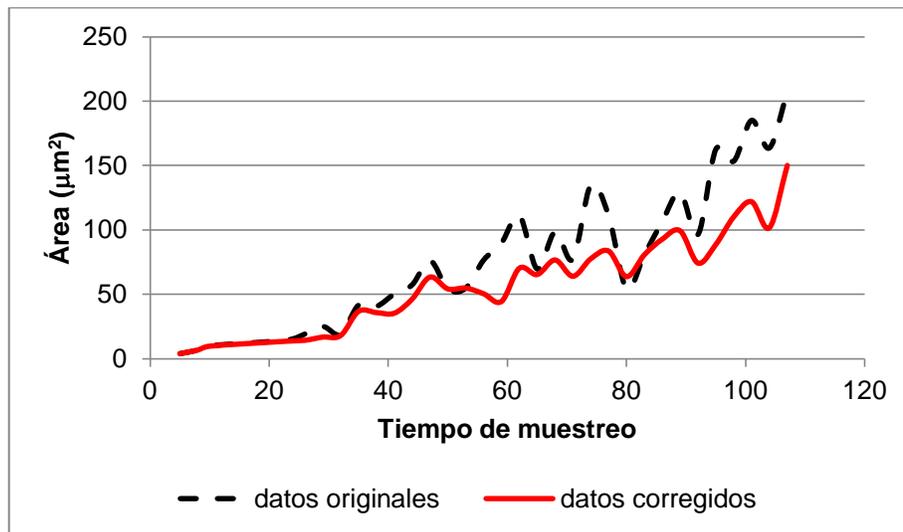


Figura 4.67. Comportamiento del aumento de área original y corregida del daño provocado por la congelación.

Este límite se alcanza al cabo de un tiempo que depende de la temperatura de almacenamiento y del tamaño inicial de los cristales y en consecuencia de la velocidad de congelación. A una temperatura de conservación constante si el diámetro inicial de los cristales es del orden de $30\mu\text{m}$, el tamaño límite se alcanza en menos de 25 días a $-5\text{ }^\circ\text{C}$; y para un diámetro inicial próximo a los $50\mu\text{m}$, el tiempo es de 19 días (Martino y Zaritky, 1998). Lo anterior demuestra que aun manteniendo cadena de frío hay crecimiento de cristales.

En los alimentos, la recristalización migratoria es la más importante y es debida a las fluctuaciones de la temperatura del almacenamiento. Cuando el calor penetra en un congelador por ejemplo: por la entrada de aire caliente al abrir la puerta, la superficie del alimento más próxima se calienta ligeramente; el calentamiento hace que los cristales de hielo se fundan parcialmente, los cristales grandes se hagan más pequeños y que los pequeños (menores de 10 μm) desaparezcan. La fusión de los cristales aumenta la presión de vapor y hace que el agua migre a zonas con presión de vapor más baja. Todo ello provoca que las partes del alimento más próximas al foco de calor se deshidraten. Cuando la temperatura en el mismo desciende de nuevo, la presión de vapor no da lugar a nuevos núcleos, sino que es captada por los cristales de hielo ya existentes que, en consecuencia aumentan de tamaño. La pérdida de calidad que todo lo anterior provoca es semejante a la que se produce en la congelación lenta (Fellows, 2007).

Después de 32 minutos del proceso de congelación, los valores originales del área del daño en la carne mostraron fluctuaciones significativas (crestas y valles pronunciados) posiblemente por intervalos de tiempo entre tomas de muestra, provocando la desestabilización de la temperatura de la cámara y en consecuencia la formación de escarcha superficial, fusión y recristalización del hielo, con lo que se incrementó el área de las cavidades. Se presentó en el análisis del total de los datos obtenidos u originales un valor mínimo de 3.9 μm^2 y máximo de 206.96 μm^2 . En cuanto a las medidas de tendencia central, se obtuvo una media propiciada por el daño estructural de 80.63 μm^2 y una mediana de 48.03 μm^2 , valores que al no ser similares implican una falta de normalidad en el comportamiento, que se confirma con el valor positivo del coeficiente de asimetría (5.27) y el valor de la prueba de Anderson-Darling ($P = 0.005$); se presentó también una alta dispersión, con $S=114.73 \mu\text{m}^2$ y CV de 142.29 %. El intervalo de confianza para las medias y medianas indican que la mayoría de los valores de área son inferiores a 100 μm^2 (para media: $74.70 \leq \mu \leq 86.56$ y mediana: $46.03 \leq \mu \leq 51.89$). Este tipo de análisis permiten dar mayor confiabilidad a los resultados (Kozak, 2009). En éste sentido, Do y colaboradores (2004) reportaron formación de cristales intra y extracelulares con diámetro máximo de 50 μm en congelación lenta; Ngapo y colaboradores (1999)

reportaron áreas de $0.22 \times 10^{-3} \text{ mm}^2$ hasta $13.79 \times 10^{-3} \text{ mm}^2$ en 150 cavidades variando velocidades de congelación; y Martino y colaboradores (1998), diámetros desde 2.34 a 40.54 μm en de más de 100 cavidades, reportando mayor daño en la carne de cerdo congelada en air blast que por congelación a alta presión asistida o por Nitrógeno.

En el Cuadro 4.20. se presentan las ecuaciones de predicción de las áreas de daño obtenidas y corregidas, para los comportamientos lineal, exponencial y polinomial. La ordenada al origen representa el valor inicial del área del daño, que es atribuido al daño por manipulación. La ecuación que representa con mayor confiabilidad el cambio de área es la correspondiente al comportamiento polinomial de tercer orden, asumiéndose que este comportamiento predictivo, indica que el aumento de área de daño tendrá un valor finito con respecto al tiempo de muestreo y al daño causado por el tratamiento térmico a bajas temperaturas.

Cuadro 4.20. Ecuaciones de ajuste del área de daño.

Regresión	Área original (μm^2)		Área corregida (μm^2)	
	Ecuación	R ² (%)	Ecuación	R ² (%)
Lineal	$y = 5.35x - 7.65$	0.84	$y = 3.66x - 0.25$	0.90
Exponencial	$y = 12.21e^{0.094x}$	0.80	$y = 11.13e^{0.0855x}$	0.81
Polinomial	$y = 0.014x^3 - 0.62x^2 + 12.24x - 21.62$	0.88	$y = 0.007x^3 - 0.34x^2 + 7.94x - 11.66$	0.92

Al comparar las áreas de las diferentes condiciones de muestreo, en el análisis de varianza de una vía se rechaza la hipótesis de igualdad de medias, con valor de $F_{\text{cal}} = 12.78$ y $P = 0.000$; al aplicarse la prueba de Tukey al 95 % de confianza, se estableció que un pequeño porcentaje estaba dentro del intervalo indicado.

Los gráficos relacionados a los residuos, que representan la diferencia entre los valores observados y los valores de predicción (Figura 4.68.), indican una falta de normalidad y de simetría; también se detectaron diversos valores máximos,

valores atípicos y anomalías, lo cual implica una falta de constancia en la varianza.

Toda esta información nos permite explicar en forma confiable el efecto de las fluctuaciones de temperatura por la entrada de aire caliente del entorno, que promueven la fusión de cristales pequeños y su recristalización aglomerada con otros cristales de mayor tamaño, o bien el efecto de la formación de escarcha superficial.

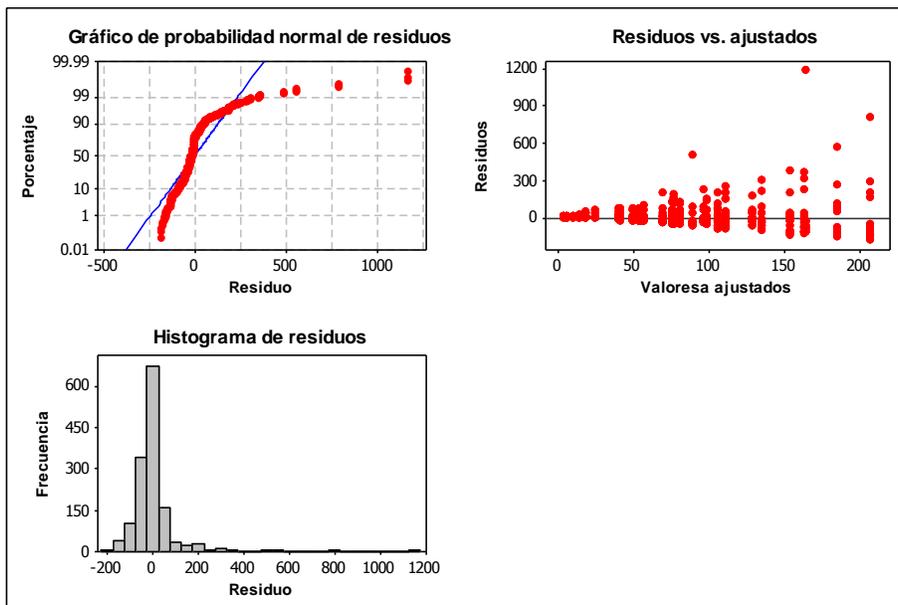


Figura 4.68. Análisis estadístico para el daño por área total.

Para la segunda etapa, correspondiente al análisis de cada condición de muestreo, los resultados se analizaron en forma más detallada para determinar qué conjunto de datos eran los que propician estos comportamientos no esperados, de manera que se pudiera decidir sobre la eliminación de valores atípicos en forma adecuada y no en forma aleatoria o por eliminación de valores extremos.

El gráfico de caja y bigote, presentado en la Figura 4.69., se muestran los valores atípicos en cada condición que deberían ser eliminados. Sin embargo, esta eliminación de valores para un tamaño de muestra adecuado y representativo de la

población, tomó como base muestras sin remplazo en poblaciones finitas, con la ecuación:

$$n = \frac{NZ^2\sigma^2}{e^2(N-1) + Z^2\sigma^2} \quad (84)$$

Donde n es el tamaño de muestra, N el tamaño de población, Z el valor tipificado al 90%, σ^2 la varianza poblacional y e= error permisible.

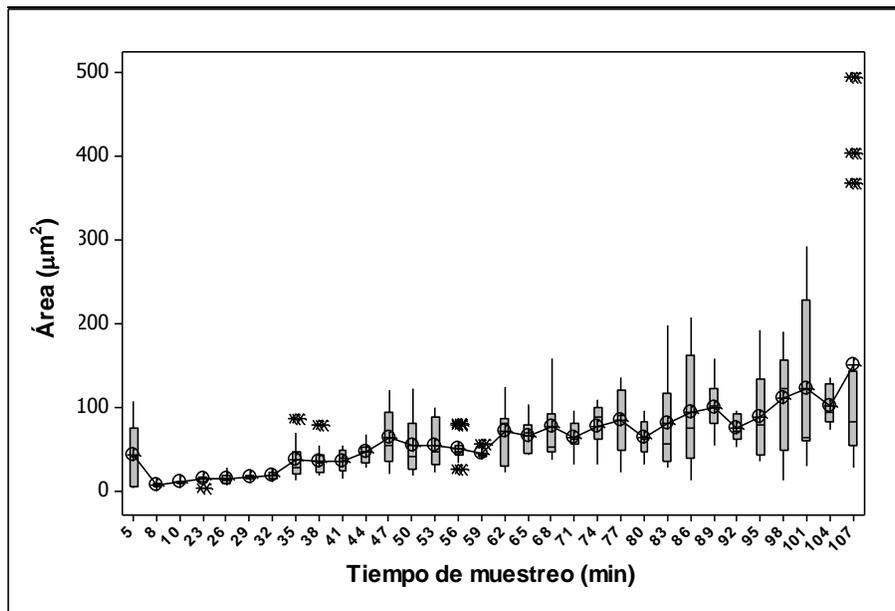


Figura 4.69. Gráfico de caja y bigote para las áreas en muestreo de 3 min.

Para ejemplificar la aplicación de la ecuación se seleccionó la condición de muestreo de 83 minutos de proceso, considerado Z como prueba bilateral, con N= 45, $\sigma= 111.82$ y un error permisible del 10%; se obtiene un valor de muestra de 37, implicando que se pueden eliminar 8 valores de área.

En la Figura 4.70. se presenta la comparación en el comportamiento y en los resultados estadísticos de la condición de muestreo a 83 min; en la Figura 64 los resultados de los datos originales y los correspondientes a los valores ajustados, donde se percibe una mejora en el comportamiento normal y en los intervalos de

confianza tanto para la media como para la mediana; así mismo una mayor concordancia entre la media y la mediana que implican mayor acercamiento a la curva normalizada.

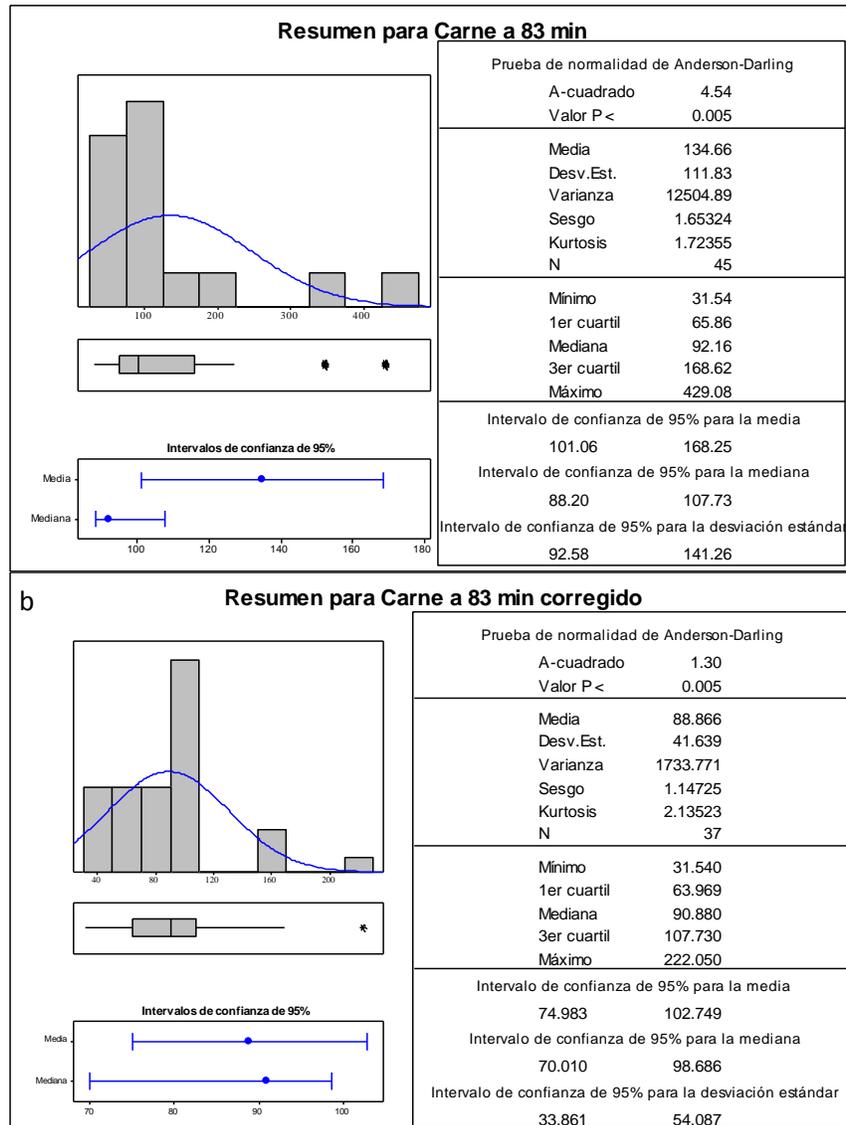


Figura 4.70. Comparación de comportamiento estadístico en condición de muestreo a 83 min. 60 a. Datos originales. 60 b. Datos corregidos.

En la Figura 4.71. se presentan microfotografías correspondientes al análisis histológico de carne fresca y congelada en diferentes tiempos de muestreo. Como puede observarse, la imagen correspondiente a la carne F no presenta un

daño considerable; las cavidades pueden ser debidas a la manipulación por el corte. En las siguientes imágenes, los daños causados por la congelación no presentan estructura regular, lo cual concuerda con lo presentado por Do y colaboradores (2004), demostrándose que la variación en la morfología se da durante procesos de congelación y no solo como efecto final, que es lo comúnmente reportado.

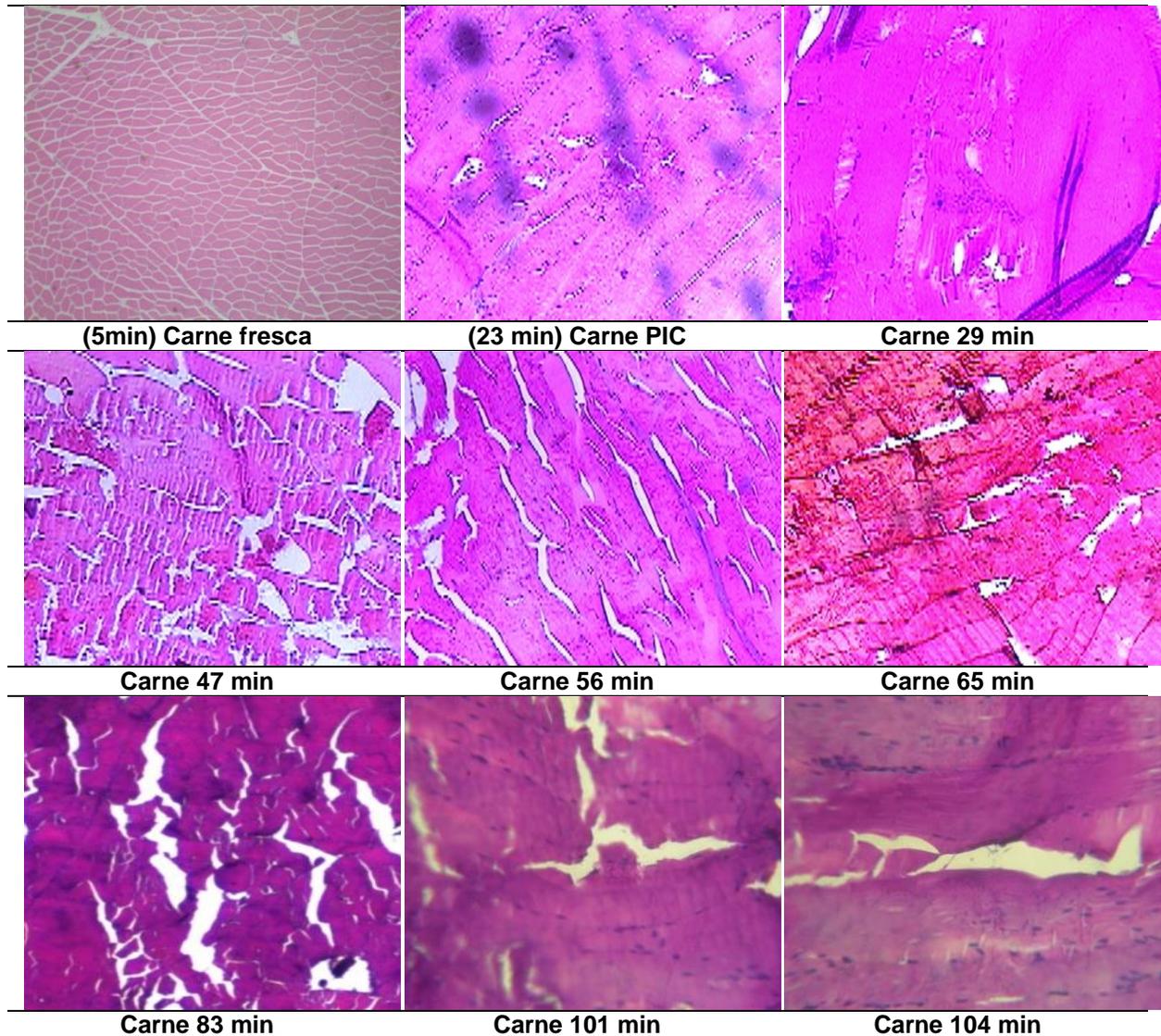


Figura 4.71. Microfotografías (30X) para la determinación del daño a diferentes tiempos de muestreo.

Martino y colaboradores (1998) reportaron que al existir fluctuación de temperatura, se presenta una fusión por cada grado Celsius que aumenta la

temperatura con un incremento de aproximadamente diez veces la velocidad de nucleación de hielo; estos mismos autores establecieron que la concentración de solutos de la fase no congelada aumenta gradualmente, disminuyendo así la presión de vapor, propiciando una deshidratación celular por la difusión de agua de las células y por lo tanto se forman cristales de gran tamaño que distorsionan y deshidratan las células. Sin embargo, al existir escarcha superficial, se puede ayudar a minimizar la deshidratación de los alimentos al sellar la salida de los jugos (Cheng y Cheng, 2001), modificando la transferencia de calor y masa en función al espesor y morfología.

En las muestras correspondientes a la carne F, a 35 y 42 min de proceso, las cavidades fueron homogéneas (inferiores al 10 %); a partir de la temperatura inicial de formación de cristales ($-2.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ en el centro térmico de la muestra y tiempo de proceso de 23 min), el área de la cavidad aumentó gradualmente de tamaño (hasta $35.76\text{ }\mu\text{m}^2$), representando un aumento del 10.9 %. En el intervalo de los 38 a 80 min durante el cambio de fase del agua a temperatura aproximadamente constante, se observa un aumento del 51 % con respecto al valor inicial, con área promedio de $101.66\text{ }\mu\text{m}^2$. A los 107 min y temperatura de $-9.9\text{ }^{\circ}\text{C}$, el área aumentó a $150.03\text{ }\mu\text{m}^2$. Esta situación de cambios drásticos de área superficial de daño es representativa tanto del efecto de la congelación lenta, a una velocidad de enfriamiento menor a $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$, como del continuo cierre y apertura de puertas, que al mezclar aire frío del interior con el aire caliente y húmedo del ambiente cambia continuamente la temperatura de la cámara.

El ajuste del comportamiento del área y las ecuaciones de comportamiento, permiten considerar que cualquiera de los comportamientos podría ser aceptado por los elevados coeficientes de ajuste (R^2). Sin embargo, la función que define en forma más acertada el crecimiento de la magnitud de daño es el modelo polinomial, con un aumento del 4.4 %; la ordenada al origen mejora al tener valores cercanos a cero como área inicial, lo que confirma la aplicación de éste análisis con los métodos y enfoques correctos que incluyeron la comprobación de la normalidad, recomendada por Kozak (2009).

El área en función al decremento de la temperatura durante la congelación (Figura 4.72.), está directamente relacionada con las fluctuaciones provocadas por la constante apertura de la puerta; así mismo se manifiesta un aumento del área a partir del PIC. Se presentó un daño real final correspondiente a un área de $150.03 \mu\text{m}^2$ a una temperatura de $-9.9 \text{ }^\circ\text{C}$.

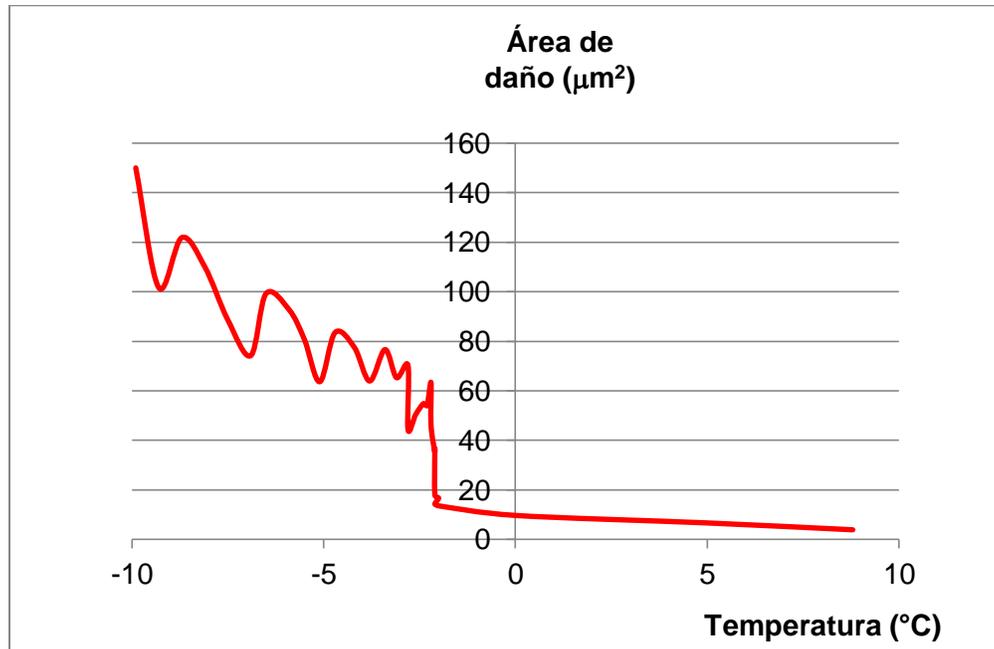


Figura 4.72. Comportamiento del área en función de la temperatura.

La medición del daño se estableció como área y no como diámetro o radio de daño, considerándose más conveniente ya que no se presenta una forma esférica ni uniforme. Existe concordancia entre el aumento de daño estructural con respecto a la temperatura de proceso, indicando que ésta forma de análisis permitirá definir la congelación como un proceso más complejo. La aplicación de herramientas estadísticas permitió ajustar los valores a un comportamiento esperado, aplicando un criterio de eliminación de resultados atípicos, que determinó el grado del daño estructural a través de la progresiva modificación de las áreas durante el tiempo de proceso.

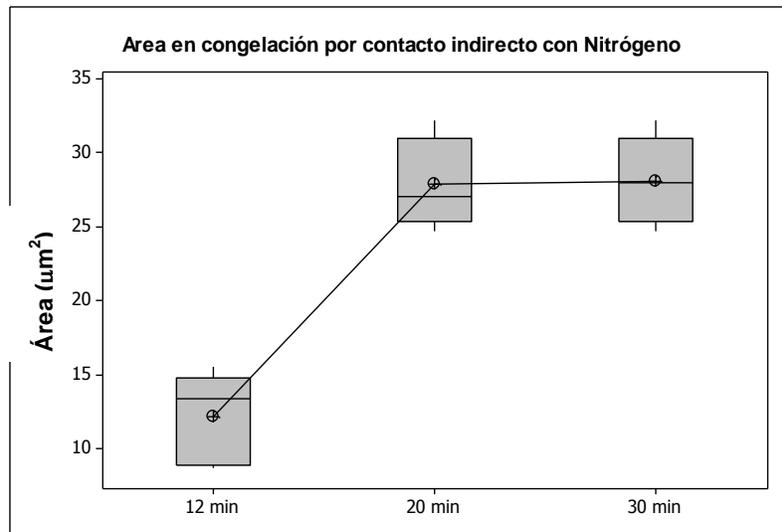


Figura 4.74. Gráfico de caja y bigote para las áreas en Congelación indirecta.

Los resultados obtenidos, pueden ser comparados con los obtenidos por Martino y colaboradores (1998) y Sanz y colaboradores (1999). Boonsumrej y colaboradores (2007), trabajaron con camarón en varios ciclos de congelación criogénica-descongelación y determinando que en la primer descongelación, la estructura de camarón fue todavía similar a la muestra de carne fresca en imágenes microscópicas similares a las obtenidas en nuestro estudio; los cambios de la estructura de la fibra muscular fueron evidentes cuando los camarones eran congelados-descongelados en más de dos ciclos. Tras el tercer y el cuarto ciclo, la fibra muscular fue desgarrada y mostró disposición desordenada y el espaciado entre fibra muscular aumentó. Además, el límite de la fibra muscular no fue perceptible. Estos cambios fueron los resultados de los daños mecánicos en los tejidos. Encontraron grandes cavidades como resultado de los grandes cristales de hielo formados durante los ciclos. El almacenamiento de camarones recongelados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ pudo provocar recristalización y estos cambios son los mismos como la cristalización hubiese sido llevada a cabo en una congelación lenta. Los cristales de hielo crecieron entre las células con el líquido extracelular más concentrado. Así mismo establecieron que las células pierden agua por ósmosis que condujo a una deshidratación y contracción de las mismas. Después de la descongelación, el agua drenada no es reabsorbida lo que conduce a una alta pérdida por goteo, o mayor cantidad de jugos exudados.

Agnelli y Mascheroni (2001) establecen que la dirección del crecimiento es cristalográfica u ordenada cuando el proceso es lento, pero cuando se da un gran subenfriamiento (congelación por líquidos criogénicos) el proceso es muy rápido y la dirección del crecimiento dendrítica está regulada por la distribución espacial de la temperatura. Por lo tanto, el concepto de una formación uniforme de núcleos (cuyo número depende de la temperatura de subenfriamiento alcanzada) y un crecimiento posterior de estos a un tamaño específico de cristal, debe considerar el complejo comportamiento que se deriva del crecimiento dendrítico de los cristales de hielo y de la presencia de gradientes de temperatura cuando se congelan muestras relativamente grandes.

IV.4.3. Comportamiento de la formación-fusión de escarcha de hielo sobre carne congelada.

La formación de escarcha y la fusión de la misma en materiales complejos como la carne, tienen gran importancia ya que modifican características de calidad visibles como el color (Laguerre y Flick, 2007) y no perceptibles por el consumidor como el daño estructural de las fibras. Así mismo, cuando la escarcha se sublima, la humedad del alimento se pierde provocando una deshidratación en la superficie llamada “quemadura por frío”, que afecta el color, la textura y el sabor; especialmente en carne (Schmidt y Lee, 2009).

El análisis del comportamiento de la escarcha sobre los cortes de carne de cerdo congelada por convección forzada y por contacto indirecto en Nitrógeno líquido, se dividió en tres partes, a) inicialmente se determinó el espesor de la escarcha en función al tiempo de muestreo en congelación por convección forzada para ser consistente con el desarrollo experimental; b) una segunda etapa estableciendo las diferencias de espesor propiciado por los dos métodos de congelación y por último c) la comparación de las propiedades termofísicas de la escarcha.

IV.4.3.1 Espesor de la escarcha en función al tiempo de muestreo en congelación por convección forzada.

En la Figura 4.75. se presentan las fotografías correspondientes a formación de escarcha durante la congelación en cámara, donde pueden observarse diferentes estructuras superficiales.

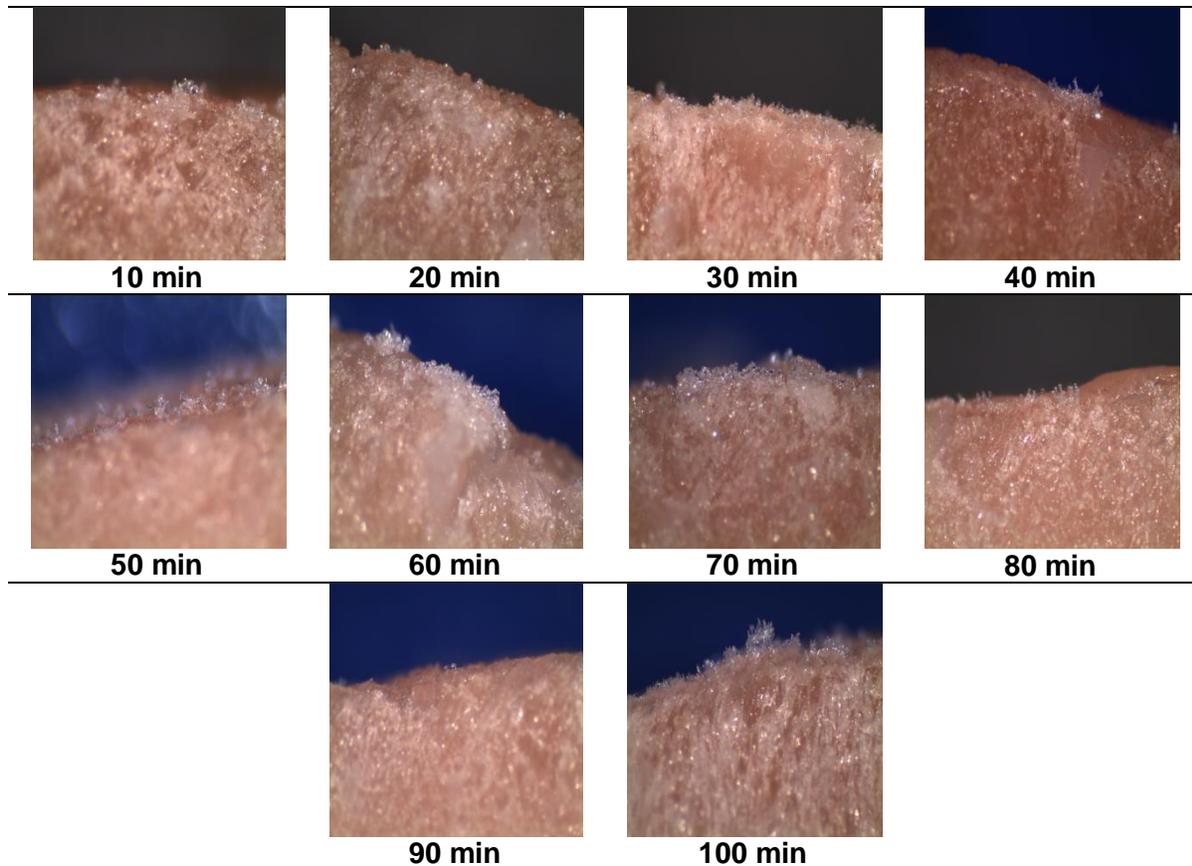


Figura 4.75. Fotografías de escarcha de carne en la congelación en cámara de convección forzada.

En la Figura 4.76., se presenta la variación de la temperatura en función a la apertura y cierre de puerta que contempla la etapa efectiva y el principio del subenfriamiento, con coeficientes de variación desde 1.35 hasta 18.73 %, comportamiento debido al intercambio térmico y másico de la HR cuyo valor promedio fue de 15.93 % \pm 5.08 y CV de 31.92 % al interior de la cámara. La HR ambiente en promedio fue de 27.3 % con un CV de 2.86 %. El tiempo total del

proceso fue de 243 min, del cual 23 min (9.48 %) correspondiente al enfriamiento, 61 min (24.94 %) a la etapa efectiva de congelación, o zona con cambio de fase y crecimiento de cristales, y 158 min (65.56 %) al subenfriamiento.

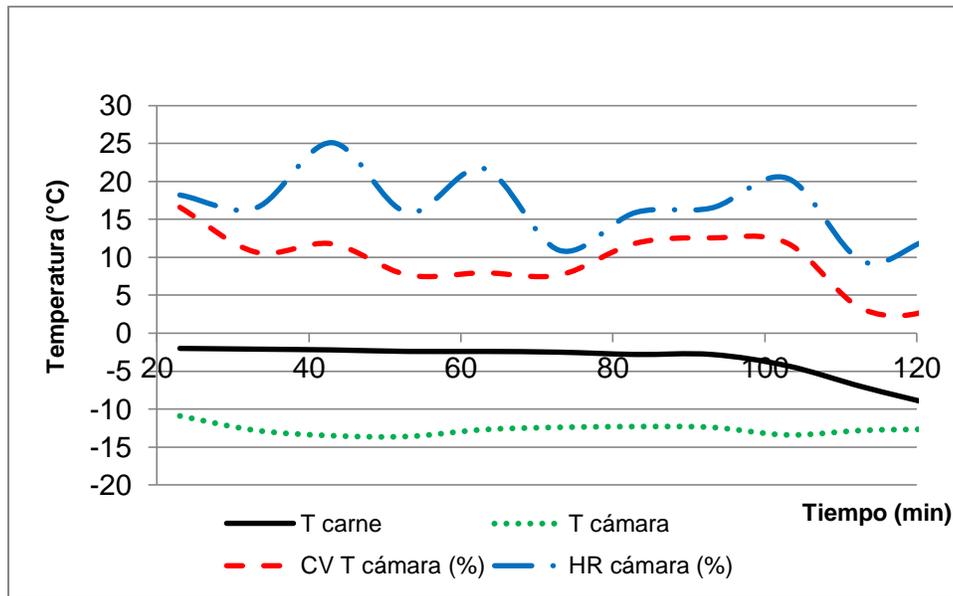


Figura 4.76. Variaciones de Temperatura y HR durante la congelación de carne en cámara de convección forzada.

En el Cuadro 4.21. se presentan los resultados correspondientes al espesor con su coeficiente de variación y los tiempos de descongelación de la misma; la variación absoluta es mayor en los tiempos 30 y 60 min, y se debe principalmente a la combinación de las condiciones al interior de la cámara y las condiciones ambientales que se intercambian por apertura y cierre de puerta. Esto es porque el aire seco y frío dentro de la cámara, se mezcla con el aire caliente y húmedo del exterior, por lo que existe la probabilidad de formación del aire sobresaturado, que está en función de la temperatura y de las diferencias de humedad dentro y fuera la cámara. En cuanto al espesor de la escarcha, Yaomin, Zhongliang y Lingyan (2012), establecieron que durante el proceso de formación de la escarcha, la estructura de los cristales cambia en función al tiempo, y por lo tanto también cambia el espesor y la densidad de la misma, lo que es perceptible en las imágenes presentadas en éste apartado.

Cuadro 4.21. Características de la escarcha en congelación en cámara de convección forzada.

Tiempo de muestreo (min)	Espesor de escarcha (mm)	Coefficiente de variación (%)	Tiempo de fusión (min)
10	0.22	12.11	10
20	1.18	11.17	6.5
30	1.16	90.85	7.5
44	1.16	11.54	6.5
50	1.15	14.00	7.5
60	1.15	79.19	7.5
70	1.14	14.07	11
80	1.17	31.18	5.5
90	1.16	19.25	5
100	1.13	16.67	5.5

Existen estudios relacionados con la medición del espesor de escarcha en placas metálicas (Lee y col., 2004), bajo condiciones controladas de HR y T (Wang y col., 2004); en alimentos como carne y algunos otros productos, Tocci y Masheroni (1995) determinaron en forma indirecta el efecto de la escarcha aunque solo mencionan una sublimación del hielo y lo relacionan con una pérdida de peso, esto fue aplicado en congeladores comerciales que presentaron variaciones propias en ciclos de paro y arranque del compresor lo que se manifiesta en una variación de temperatura, resultados que no pueden ser comparados ni adaptados a la información trabajada en el proyecto de investigación.

IV.4.3.2. Comportamiento de la escarcha en fusión.

En la segunda parte se comparó el comportamiento de la fusión de la escarcha en carne sometida en los dos sistemas de congelación por lo que en la

Figura 4.77. se presentan las fotografías que fueron tomadas cada 30 s en congelación en cámara de convección forzada; la temperatura inicial de la carne en su centro térmico era de $-6.9\text{ }^{\circ}\text{C}$, en la superficie de $-5.9\text{ }^{\circ}\text{C}$, las condiciones ambientales durante la fusión fueron; $T_{\text{amb}} = 27.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ con $\text{HR} = 46\%$; el tiempo total de fusión fue de 5.5 min.

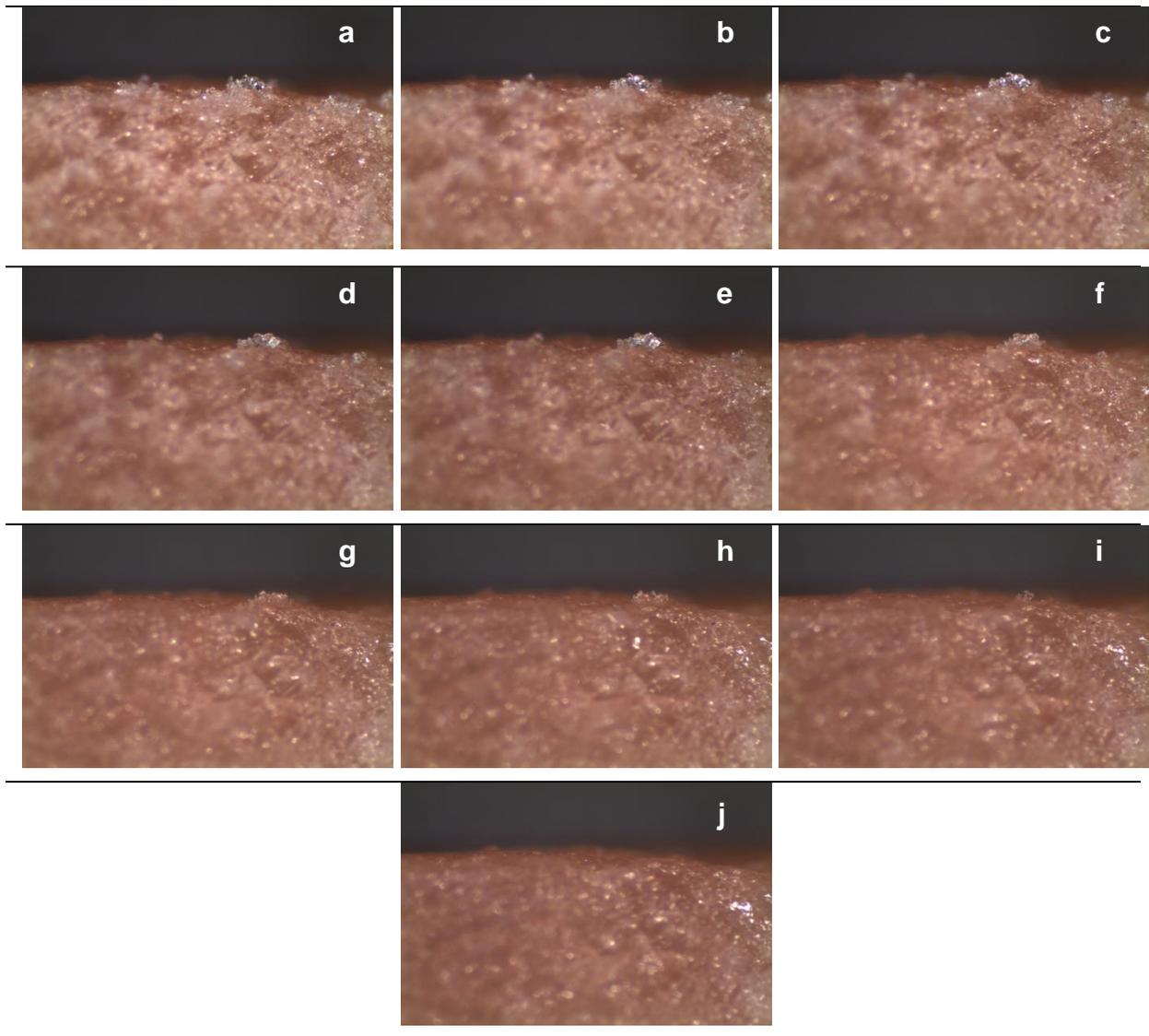


Figura 4.77. Variación del espesor en función al tiempo de fusión de escarcha de carne congelada en cámara de convección forzada.

Fossa M., 2010, cita que desde el punto de vista microscópico, los cristales de la escarcha presentan diferentes formas y tienen diferentes velocidades de crecimiento. El crecimiento de los cristales de hielo parece ser aleatorio e impredecible y cuando la velocidad del aire es elevada, se generan más cristales de hielo. Estos cristales de hielo y columnas de cristal derivadas de las existentes forman ramificaciones que darán el espesor y la densidad a la capa de escarcha que se incrementa con el tiempo, así mismo, la forma de los cristales de hielo exhibe una fuerte dependencia de la temperatura y en menor grado de la sobresaturación. En este sentido Sahin (2000), presenta una relación de la forma de la escarcha en función a la temperatura, resaltándose que de -3 a -5 °C se tendrá la formación de agujas; de -5 a -8 °C formación de prismas huecos, de -8 a -12 prismas hexagonales; de -12 a -16 cristales dendríticos; de -16 a -25 formación de placas y de -25 a -50 prismas huecos; con una característica notable como es una secuencia de cambio de forma la cual ocurre en el intervalo de 0 a -25 °C.

Por otra parte, Qu y colaboradores (2006) muestran un diagrama, donde se indica que el cambio de forma de cristal depende de la temperatura del ambiente y del grado de saturación del agua en el mismo, para su posterior transformación a hielo, como por ejemplo la temperatura de -15 °C, observó que los cristales tienen forma de placas hexagonales y, conforme se aumenta el grado de saturación, aumenta el número de placas que crecen a lo ancho como extensiones, formando estructuras similares a los copos de nieve. En la Figura 4.78., se presentan las fotografías obtenidas en congelación por $N_{2(L)}$, tomadas cada 5 s, donde se demuestra que se pasa de estructuras dendríticas al inicio de la fusión.

La temperatura de la carne en el centro térmico fue de -32 °C; con T_{sup} inicial de -35 °C el tiempo de congelación por contacto indirecto de 20 min; para el análisis de espesor de escarcha, las condiciones ambientales fueron: HR=46.2 %, T_{amb} =28.5 °C con un tiempo total de fusión de 2 min.

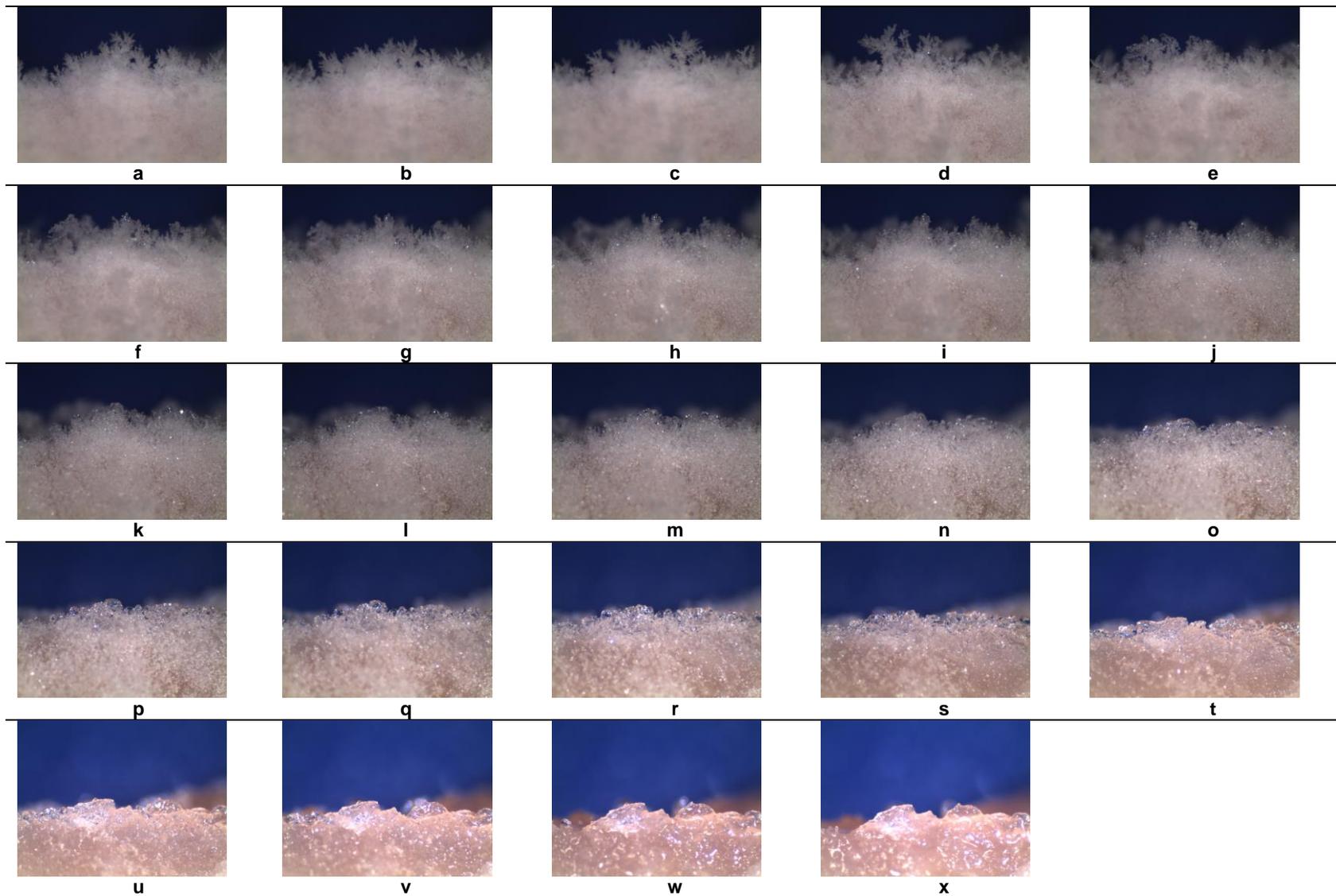


Figura 4.78. Variación del espesor en función al tiempo de fusión de escarcha de carne congelada en $N_{2(L)}$.

La escarcha que se forma por la congelación en Nitrógeno líquido es diferente a la escarcha de cámara, la primera presenta una estructura similar a agujas o “bolas de nieve”, mientras la de $N_{2(L)}$ estructuras más ordenadas, en forma de fractales o dendritas, esto es debido al efecto de la temperatura pero que no corresponde a la reportada por Sahin (2000). Esta debería tener forma de prismas delgados, sin embargo la escarcha presenta una forma dendrítica, posiblemente debido a los cambios de humedad relativa. También se tiene la hipótesis de que la escarcha que se forma no sólo es por el agua del aire que se ablima en la superficie (Gatica, Pita y Lobo, 2009), sino también puede ser agua del alimento, es decir una pequeña cantidad de agua del corte de carne porcina migra hacia el exterior por el choque térmico de la congelación con Nitrógeno líquido.

En cuanto a la formación de escarcha, Do y colaboradores (2004), mencionan que la formación de cristales durante la congelación es generalmente difícil de observar debido a sus variaciones dinámicas en morfología, tamaño, configuración, color y transparencia, por lo que también resulta difícil determinar las características de la escarcha, es por ello que el análisis de la formación se realiza inicialmente en función al tiempo de muestreo y en forma inversa, es decir, durante la fusión.

Como última parte de esta segunda etapa, se compararon los espesores promedio de escarcha formada después de la congelación de carne con $N_{2(L)}$ (0.6630 ± 0.3098 mm), en cámara de convección forzada sin fluctuaciones de temperatura (0.2087 ± 0.1616 mm) y con apertura y cierre de puerta que promovieron el intercambio de las condiciones ambientales con las del interior de la cámara (0.2730 ± 0.1373 mm) y que son representados en la Figura 4.79., mostrándose que existen diferencias significativas ($\alpha=95\%$) entre los valores.

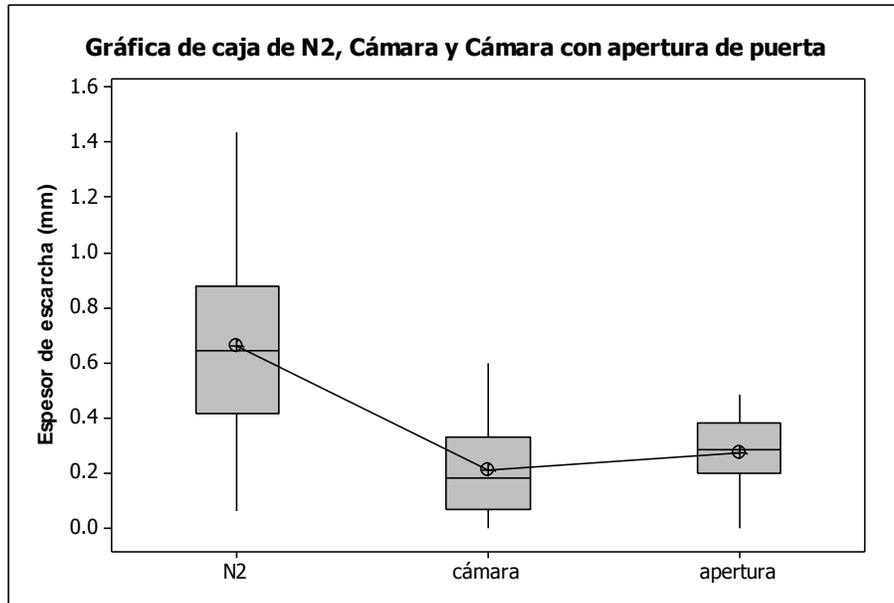


Figura 4.79. Comparación de las variaciones del espesor de escarcha en función al método de congelación.

En $N_{2(L)}$, se presentó mayor tamaño y dispersión de la escarcha. Los promedios en cámara con y sin fluctuación de temperatura no presentaron diferencias significativas.

Las Figuras 4.80. y 4.81. presentan los gráficos de comparación (ANOVA de una vía) de las variaciones del espesor en función al tiempo de fusión en los dos métodos de congelación. En este sentido, Mannapperuma y Singh (1987), con HR= 40% y $T_{amb} = 14.61$ °C, presentaron un modelo de comportamiento de formación muy similar al de la fusión de escarcha experimental, dónde pueden distinguirse claramente las etapas de formación, consolidación y transición de fase, principalmente en la congelación con $N_{2(L)}$. Sin embargo, los resultados que se han reportado, se ha realizado en placas metálicas en condiciones similares: temperatura superficial en placas (-10.5 °C); %HR (80 %) temperatura del aire (19 °C) a los 30 min, con valores de 1.3 mm (Wang y col., 2012); y 2 mm de espesor para temperatura superficial en placas (-15 °C); %HR (80 %) temperatura del aire (25°C) a los 30 min, por lo que nuestros resultados son confiables.

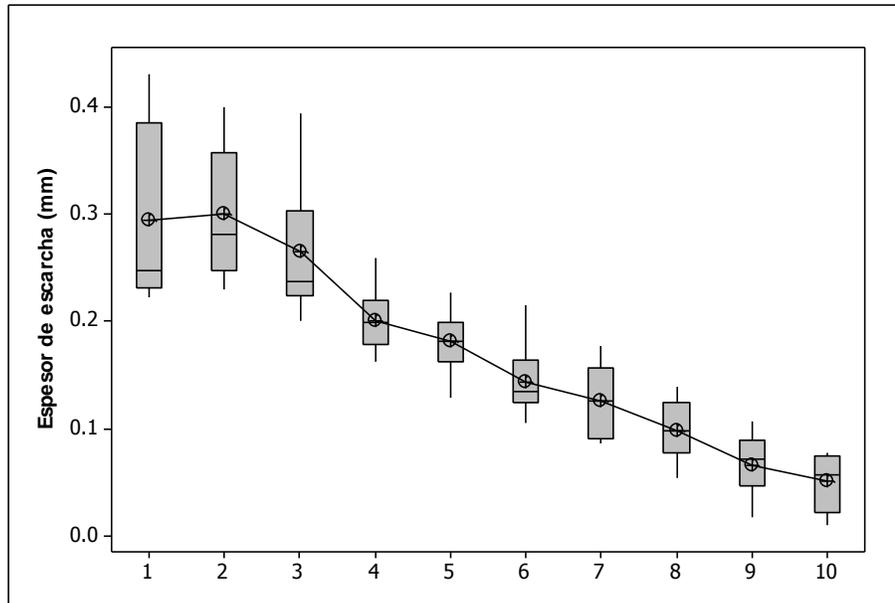


Figura 4.80. Comparación de las variaciones del espesor de escaracha en función al tiempo de fusión de carne congelada en cámara de convección forzada.

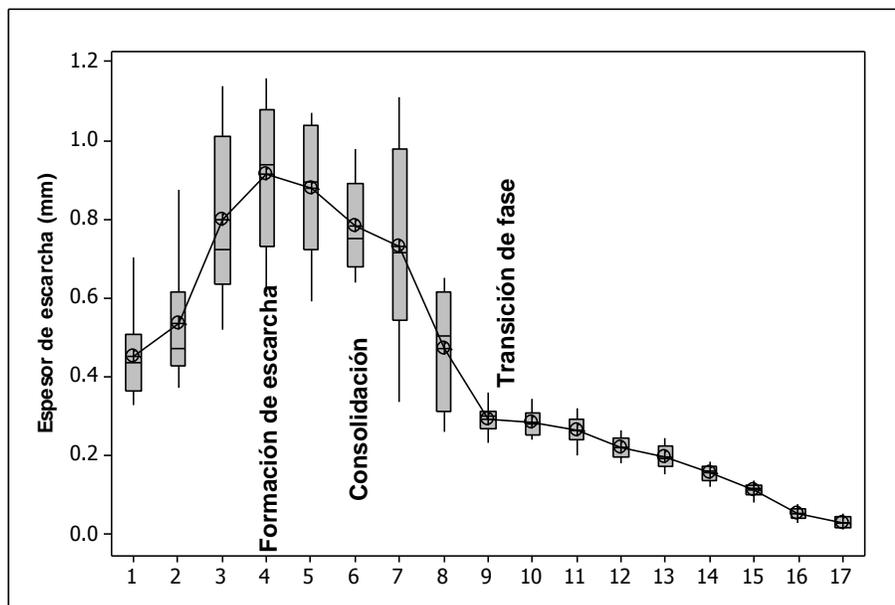


Figura 4.81. Comparación de las variaciones del espesor de escaracha en función al tiempo de fusión de carne congelada en $N_{2(L)}$.

Por lo que a partir de las observaciones en forma inversa en la formación de la escarcha o bien en fusión, se puede puntualizar lo siguiente:

1) Puede existir la formación de escarcha de hielo por sublimación inversa. Cuando un alimento congelado está expuesto a un ambiente dónde el aire está caliente y húmedo, comienza a crecer una capa de escarcha sobre la superficie casi instantáneamente. Aquí se presenta una transferencia simultánea de calor y de masa del aire hacia la superficie del alimento. El vapor de agua presente en el aire alcanza la superficie fría, presentándose una nucleación heterogénea en forma de cristales de hielo. Cuando el aire sobresaturado se encuentra a una temperatura superior al punto de congelación del agua, la humedad en el aire probablemente se encuentra en forma de pequeñas gotas o niebla. Cuando la temperatura del aire está por debajo del punto de congelación del agua, probablemente se forma una “niebla de hielo” (Mago y Sherif, 2005). A este cambio de estado de vapor de agua a hielo sin pasar por el líquido se le conoce como ablación (Gatica y col., 2009). La transferencia de calor generalmente se da de una temperatura mayor a una temperatura menor siempre y cuando haya un aumento en la entropía, la transferencia de masa también sigue este comportamiento, la diferencia de temperaturas es la que crea una fuerza impulsora que explica porque el vapor de agua migra hacia la superficie fría. Mientras más vapor de agua alcanza la superficie existe mayor nucleación y crecimiento de cristales. Esta capa de escarcha continua creciendo mientras la temperatura de la interfaz escarcha-aire se encuentre por debajo del punto de congelación del agua.

2) Consolidación de la escarcha. La etapa de crecimiento de la escarcha termina cuando la temperatura de la interfaz escarcha - aire se incrementa por encima del punto de congelación del agua (punto triple). El vapor de agua que alcanza la interfaz (la superficie de los cristales de hielo) no puede solidificarse en la misma. Por tanto, una parte del vapor condensa en la superficie de los cristales de hielo, formando gotas pequeñas. El agua condensada y la parte del vapor de agua restante migran dentro de la superficie de la escarcha. Una vez que han alcanzado el interior, el vapor de agua solidifica en la superficie de los cristales de hielo ya

existentes donde la temperatura está aún por debajo del punto de congelación del agua. Este proceso incrementa gradualmente la densidad de la escarcha, hasta que todos los poros están llenos y se forma una capa de hielo. La escarcha al ser un medio poroso tiene una baja densidad (650 kg/m^3) en comparación con el agua (1000 kg/m^3), por tanto, este proceso de consolidación termina hasta que la densidad de la escarcha alcanza la densidad del hielo.

3) Transición de fase. Una vez consolidada, la superficie del alimento está completamente cubierta por una capa delgada de hielo. La interfase entre esta capa de hielo y el aire está en la temperatura del punto de congelación del agua, mientras la superficie de alimento se encuentra a una temperatura inferior. Continuando la transferencia de calor y masa del aire hacia la capa de hielo, todo el vapor de agua alcanza la interfase hielo - aire condensando como agua y comienza a formar una capa delgada de agua. Así, estas dos capas se presentan en la superficie del alimento. La interfase hielo - agua permanece a la temperatura de punto de congelación del agua, mientras que la interfase agua - aire se encuentra a una temperatura ligeramente más alta. La condensación del vapor de agua libera su calor latente en la interfase de agua - aire. Estos calores, latente y el calor recibido en la interfase por convección y radiación han sido transferidos a través de las dos capas de escarcha hacia la superficie del alimento en un proceso no - estático ya que parte de este calor es utilizado en la interfase para fundir el hielo. Resultando en la disminución gradual de la capa de hielo, hasta que éste se derrite por completo marcando el fin de esta etapa.

IV.4.3.3. Propiedades termofísicas de la escarcha.

Se analizaron las propiedades termofísicas tales como: densidad, conductividad térmica y porosidad ya que se puede determinar cómo se comporta la escarcha durante sus distintas etapas en la meseta de congelación, además de su comportamiento al aplicar ecuaciones empíricas.

En la Figura 4.82. se presentan los gráficos de comportamiento del hielo en la escarcha en función a la temperatura superficial y realizando los cálculos según

las ecuaciones presentadas en la metodología, donde se observa un cambio en la temperatura de $-7.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en la etapa de subenfriamiento que puede ser verificado en la Figura 4.83.

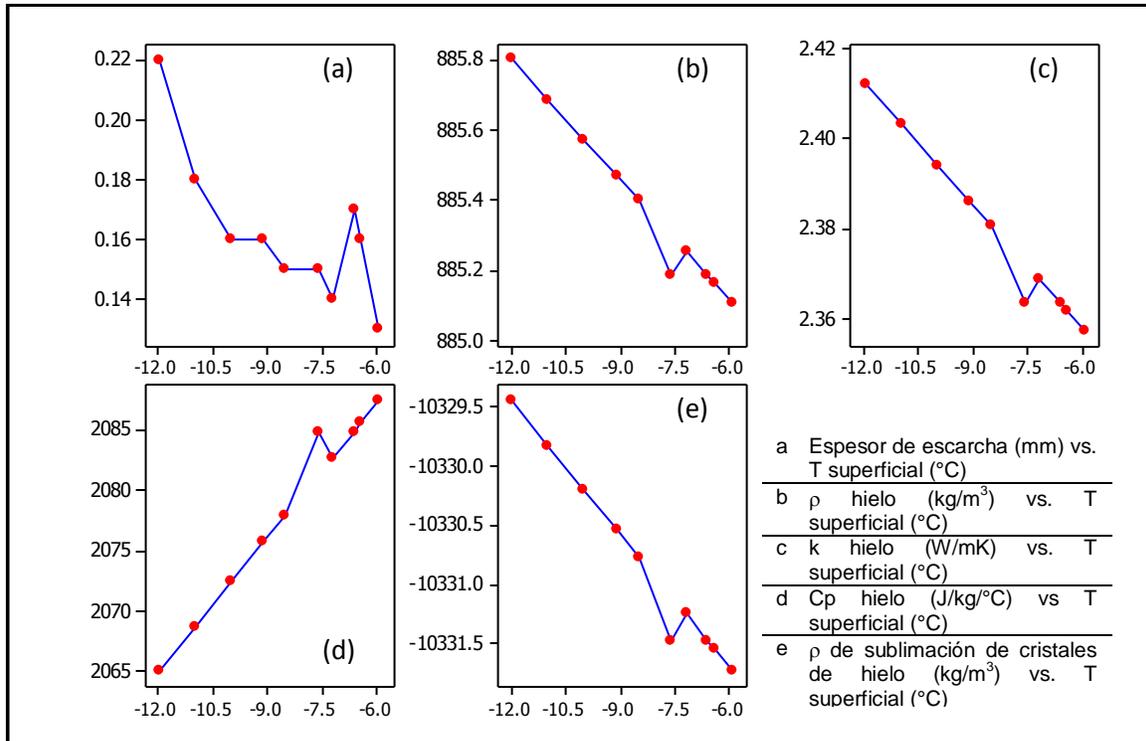


Figura 4.82. Comportamiento del hielo en la escarcha analizada durante el proceso de congelación en función a la Temperatura superficial de la carne.

La Figura 82 (a) representa al espesor de la escarcha, donde hay un cambio a los $-7.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ correspondiente a una igualdad entre la temperatura superficial y la del centro térmico de la muestra; en cuanto a las propiedades de hielo, la densidad presenta en nuestros resultados un valor numérico menor al reportado ($885\text{ kg}/\text{m}^3$) posiblemente debido a la relación matemática utilizada (Gatica, 2009) en donde sus resultados muestran valores máximos de $500\text{ kg}/\text{m}^3$, éste resultado no es consistente con la teoría ya que cerca de los $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ se tiene una densidad del hielo de $916.2\text{ kg}/\text{m}^3$ y de 999.8 del agua a la misma temperatura, debido a que el hielo se expande al solidificarse, fenómeno que se basa en la geometría de las moléculas más abiertas para el hielo (109.28° frente a 104.5°), por lo que al bajar la temperatura ésta debe aumentar. El comportamiento de la conductividad térmica

(Figura 82 c) disminuye al aumentar la temperatura superficial, de 2.41 a 2.35 W/mK representando el 2.3 %. La conductividad térmica del hielo reportada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ es de 2.4 W/mK (Biguria y Wenzel, 1970) y se sabe que es 4 veces mayor a la del agua, por lo que los resultados son adecuados.

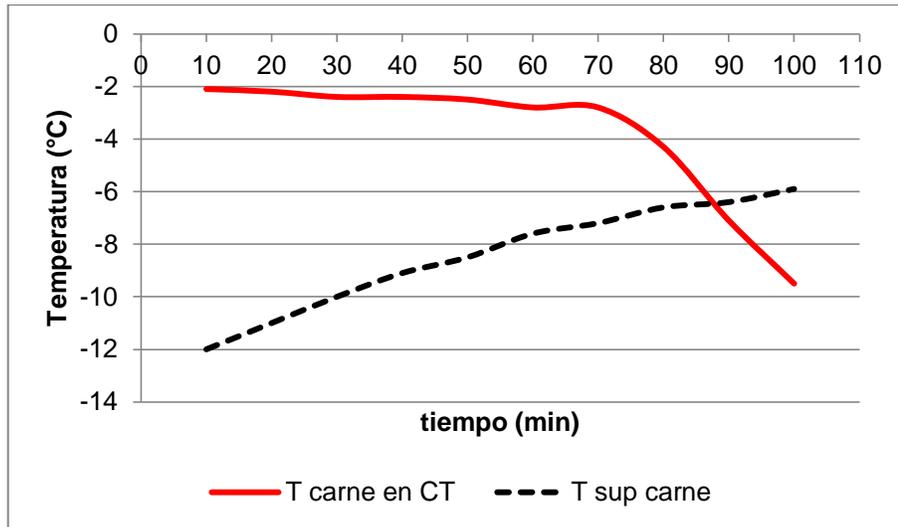
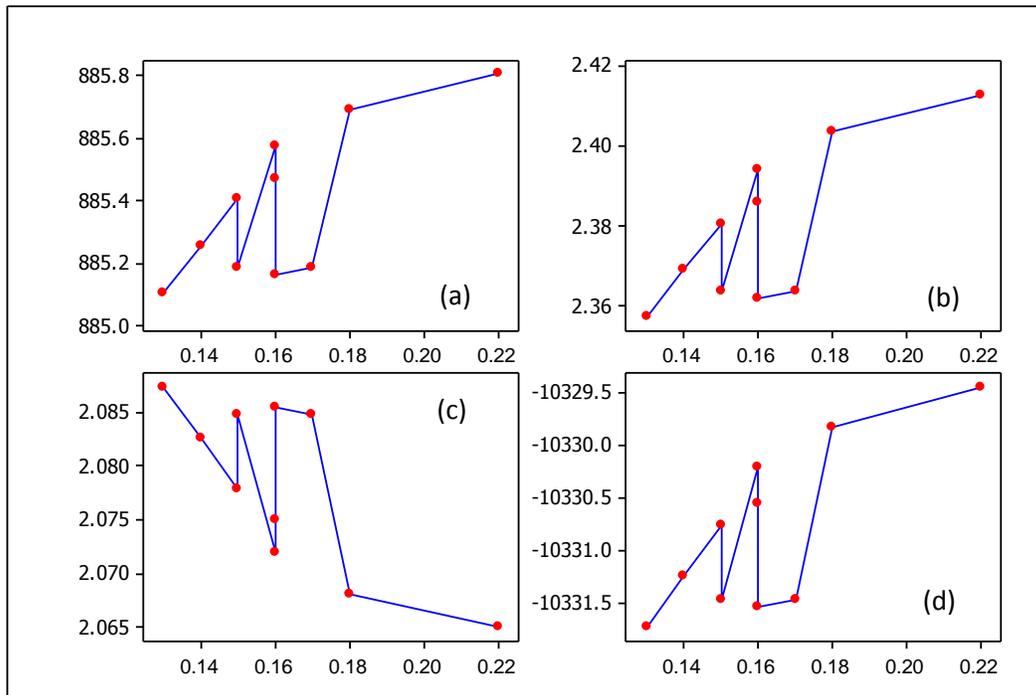


Figura 4.83. Temperatura superficial de la carne y Temperatura en el centro térmico de la carne durante la congelación.

Dentro de los valores reportados por Perry, Green y Maloney (1999) se encuentra que, a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, la densidad, la conductividad térmica y la C_p presentan valores de: 917.5 kg/m^3 , 2.25 W/mK y $2.02\text{ J/g}^{\circ}\text{C}$ respectivamente y a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, valores de 919.4 kg/m^3 , 2.34 W/mK y $1.97\text{ J/g}^{\circ}\text{C}$, y los resultados experimentales presentan valores a -12°C y $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ de: densidad del hielo 885.80 a 885.10 kg/m^3 ; 2.41 a 2.25 W/mK y 2.065 a $2.77\text{ J/g}^{\circ}\text{C}$.

La densidad de los cristales en sublimación puede ser entendida como una densidad aparente, que está en función de la temperatura del cristal de hielo, determinada a partir de la temperatura de formación del cristal y que se asumió era la temperatura superficial de la carne, como lo reportado por Sahin en 2000, sus resultados van de 175 hasta 980 kg/m^3 a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ respectivamente, en este estudio se encontraron valores de 408 y 661 a -12 y $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$, que presentan la misma tendencia de cambio.

Las propiedades térmicas de la escarcha y del hielo formado generalmente se reportan en función al tiempo (Barzanoni y col., 2011; Shain 2000; Wang y col., 2012; Kandula 2011), sin embargo, aunque estas propiedades están en función a la temperatura, se consideró adecuado analizar su efecto en función al espesor, resultados que son presentados en la Figura 4.84.



a) ρ hielo (kg/m³) vs. Espeor de escarcha (mm), b) k hielo (W/mK) vs. Espeor de escarcha (mm), c) Cp hielo (J/kg/°C) vs. Espeor de escarcha (mm) d) ρ de sublimación de cristales de hielo (kg/m³) vs. Espeor de escarcha (mm)

Figura 4.84. Comportamiento del hielo en la escarcha analizada durante el proceso de congelación en función al espesor.

La densidad, conductividad térmica y la densidad de sublimación del hielo, en función al espesor de escarcha, aumenta en el mismo porcentaje que con respecto a la temperatura y lógicamente en función al espesor son menores cuando se encuentran fundidos. Aunque los valores numéricos de las variables de respuesta son los mismos, al representarlos en función al espesor, se modifica el comportamiento ya que las propiedades, aunque dependen principalmente de la temperatura superficial están relacionadas con la HR y la temperatura ambiente que en nuestro caso se mantuvieron constantes.

Las propiedades de la escarcha en función al espesor se presentan en la Figura 4.85. y en la 4.86. en función al tiempo.

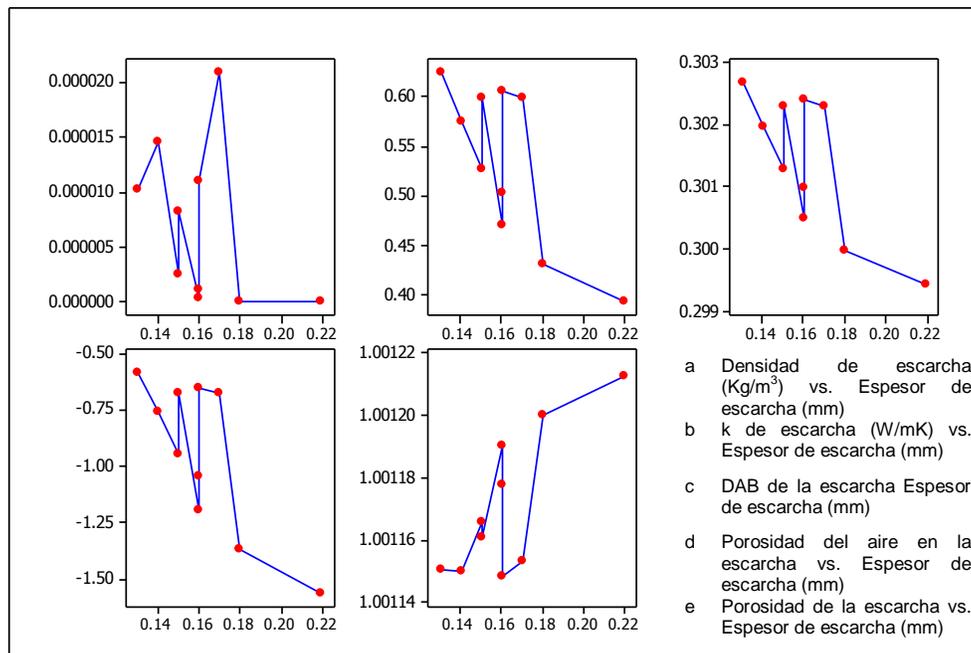


Figura 4.85. Propiedades la escarcha analizada durante la fusión en función al espesor.

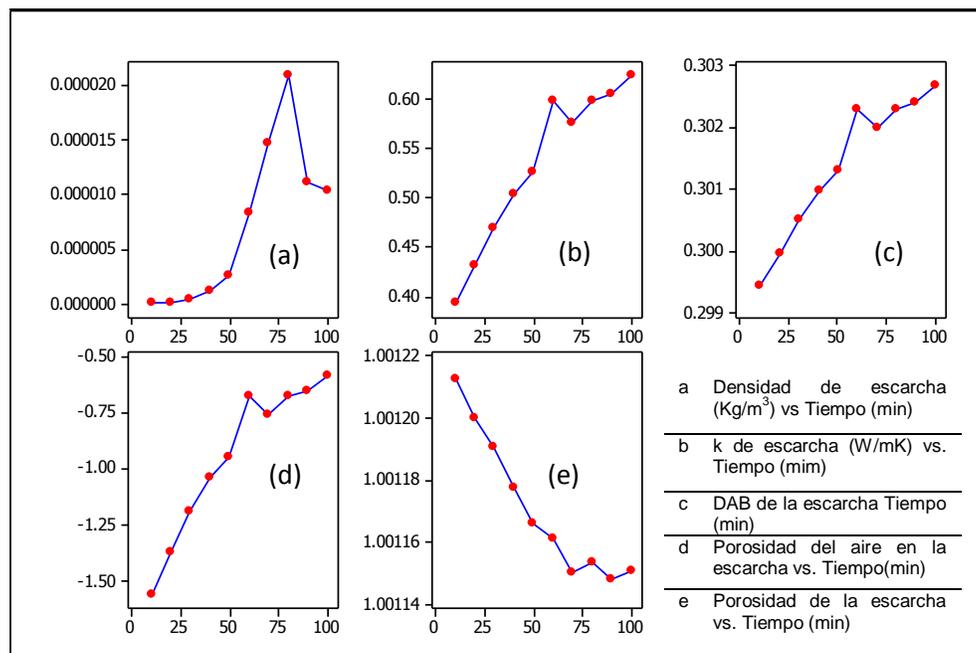
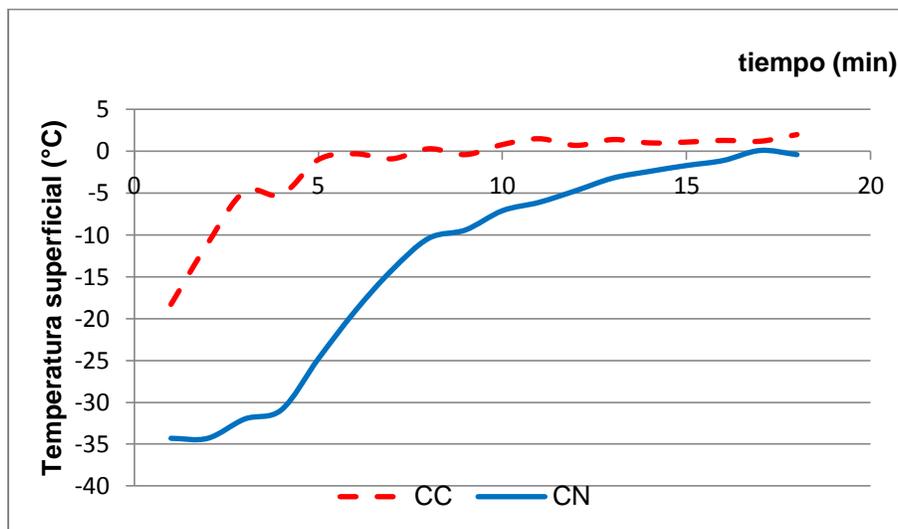


Figura 4.86. Propiedades la escarcha analizada durante el proceso de congelación en función al tiempo.

IV.4.3.4. Comparación de escarcha en función al tiempo de fusión en Nitrógeno líquido y congelación en convección forzada.

En la Figura 4.87. se presentan los perfiles de temperatura superficial en la fusión de carne congelada en Nitrógeno líquido y en cámara, que sirvió para los cálculos de las propiedades termofísicas. Como era de esperarse, la temperatura superficial (T_s) de la cámara es mayor y llega más rápidamente a ser constante, en esta zona es donde se lleva a cabo la fusión de la escarcha formada. La importancia de la temperatura superficial y su relación con la presión parcial del vapor en la misma superficie se relaciona con la capa inicial donde posteriormente se difunde el agua. En el caso de la descongelación de los alimentos, la temperatura de la superficie se eleva rápidamente y el problema es de naturaleza transitoria (Lind, 1991).

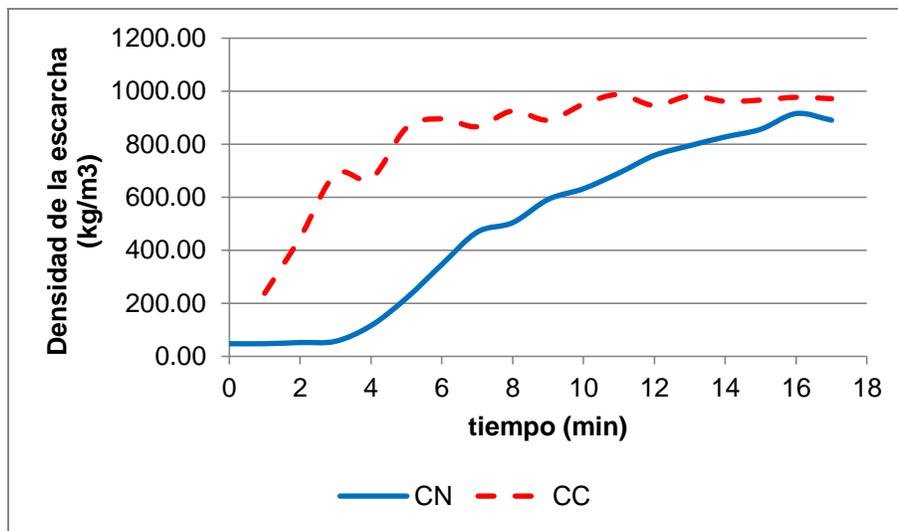


CN = congelación con Nitrógeno líquido, CC= congelación en cámara d convección forzada.

Figura 4.87. Comparación de la temperatura superficial de la escarcha en fusión entre $N_{2(L)}$ y cámara de convección forzada.

El comportamiento de la densidad durante la fusión de la escarcha es presentado en la Figura 4.88., para ambos métodos de congelación, la variable de respuesta presenta un comportamiento ascendente que implica la densidad de la escarcha se acerca a la del agua ya que el cambio de estado propicia la formación de una película superficial más susceptible a contaminación

microbiana puesto que ha existido migración de compuestos de la carne a la superficie por la ruptura de paredes celulares como respuesta a la congelación. En la formación de escarcha o durante la congelación la fuerza de enlaces de hidrógeno de hielo se incrementa debido a la reducción de su energía de vibración y esto da lugar a un incremento entre la entalpía del agua y hielo, implicando que en la fusión hay ruptura de éstos enlaces y de los que se formaron con los aminoácidos polares como: (básicos: Arginina, Lisina e Histidina; ácidos: Acido Aspártico y Acido Glutámico; amidas: Glutamina y los hidróxidos: Serina y Treonina).



CN = congelación con Nitrógeno líquido, CC= congelación en cámara de convección forzada.

Figura 4.88. Comparación de la densidad de la escarcha en fusión entre $N_{2(L)}$ y cámara con convección forzada.

La porosidad de la escarcha presenta una tendencia esperada al decrecer conforme transcurre el tiempo de fusión en ambos métodos, comportamiento que puede visualizarse en la Figura 4.89. Como se sabe, la porosidad se incrementa con el tiempo, disminuyendo las velocidades de transferencia de masa y de calor (Mannapperuma, 1987); esto es importante porque con un mayor espesor de escarcha porosa, se presenta una mayor resistencia térmica, por lo que, los valores obtenidos (inferiores a 1 W/mK), son bajos debido a que la escarcha está compuesta

por hielo poroso lleno de aire, con una conductividad térmica muy baja, que actúa como un aislante, reduciendo la transferencia de calor (Kim y col., 2009).

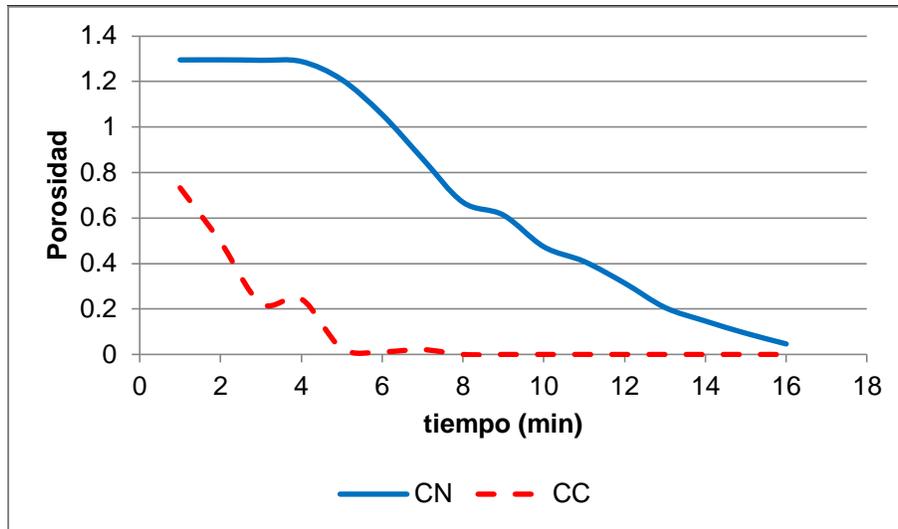


Figura 4.89. Comparación de la porosidad de la escarcha en fusión entre N_{2(L)} y cámara con convección forzada.

En el Cuadro 4.22. se presentan las ecuaciones de predicción de las principales variables termofísicas analizadas durante la fusión de la escarcha, donde se resalta que en todos los casos se tiene un mejor ajuste polinomial de tercer grado con valores de coeficientes muy adecuados ya que son superiores al 90%.

Cuadro 4.22. Ecuaciones de predicción de propiedades termofísicas de la escarcha en congelación en Nitrógeno líquido y en cámara de convección forzada.

Propiedades termofísicas de la escarcha	Nitrógeno líquido	R ²	Cámara de convección forzada	R ²
Densidad	$y = -0.4136x^3 + 9.5261x^2 + 7.93x + 15.432$	0.989	$y = 0.5646x^3 - 20.208x^2 + 235.59x + 60.307$	0.9649
Conductividad	$y = 0.0006x^3 - 0.0214x^2 + 0.2429x + 0.0214$	0.951	$y = 8E-05x^4 - 0.0036x^3 + 0.0522x^2 - 0.1997x + 0.1795$	0.9509
Porosidad	$y = 0.001x^3 - 0.0244x^2 + 0.0725x + 1.266$	0.991	$y = -0.0009x^3 + 0.0289x^2 - 0.3003x + 0.9759$	0.969

Como análisis final de esta parte, se puede decir que la formación de cristales superficiales se ve directamente relacionada con el tiempo y la temperatura, Mago y Sherif (2005) establecieron que cuando existe un aire sobresaturado donde su temperatura está por encima del punto de congelación del agua, el vapor de agua en el aire se transforma en pequeñas gotas de líquido suspendidas en la corriente del aire, es decir niebla.

No obstante, cuando la temperatura del aire está por debajo del punto de congelación, el agua cambia de estado y se forma una “niebla de hielo”. Los cristales transportados por el aire que normalmente existen como niebla, tienen gran afinidad por las superficies frías y como consecuencia tienden a depositarse en alguna superficie durante su trayecto hacia el interior de la cámara.

En contraste con consideraciones que han realizado varios autores (Cheng y Cheng, 2001, 2002; Wang y col., 2004 y Fossa y Tanda 2002) con respecto a la formación de escarcha, se establece que: (1) La densidad de la escarcha no puede suponerse uniforme. (2) La capa de escarcha aparenta crecer en la dirección perpendicular a la superficie de la placa de carne fría, por lo que no puede haber una estricta comparación de la formación, ya que los estudios se han realizado sobre superficies metálicas. En el caso de la carne, existe una mayor afinidad por el agua, esto es, se tiene la presencia de proteínas que modifican estructura por efecto de congelación, donde existen grupos nitrogenados o azufrados que permiten la formación de al menos puentes de hidrógeno que aumentan la capacidad de interconexión con la humedad ambiente.

Después de la fusión de la escarcha se propician daños por:

- 1) Condensación. Cuando la capa de hielo se ha fundido por completo, solamente una capa delgada de agua está presente en la superficie del alimento. La transferencia de masa y calor del ambiente hacia la capa de agua continúa, por lo tanto la condensación del vapor de agua sobre la capa existente de agua también continúa. La temperatura de la interfaz agua-aire gradualmente se incrementa hasta alcanzar el punto de rocío del aire del ambiente. En esta etapa, el potencial de

transferencia de masa o fuerza impulsora desaparece y la transferencia de masa se detiene, de esta manera termina la fase de condensación.

2) Evaporación. Cuando la interfase agua-aire alcanza la temperatura del punto de rocío, la transferencia de masa se detiene momentáneamente, pero la transferencia de calor prevalece. Por lo tanto, la temperatura de la interfase se incrementa por encima de la temperatura de punto de rocío y la presión de vapor en la interfase se incrementa sobre el nivel en el ambiente. Esto crea un potencial de transferencia de masa en dirección opuesta, causando que el agua de la capa se evapore hacia al ambiente. La etapa de evaporación termina cuando la capa de agua se ha evaporado completamente.

3) Secado. Una vez que la capa de agua en la superficie se ha evaporado completamente, la superficie del producto está en contacto con el aire, entonces el agua del alimento migra hacia el aire y el alimento se deshidrata, comenzando la etapa de secado. Esto se debe a que en la superficie del alimento la presión de vapor del agua es mayor que en el aire, de este modo el agua migra para llegar al equilibrio (Laguerre y Flick, 2007). Este proceso de secado está definido por las características del alimento y no por el fenómeno de superficie.

IV.4.4. Análisis de imagen por textura estadística.

La cuantificación de la variación espacial de valores de tono de píxeles en las imágenes adquiridas, permitió evaluar la textura estadística como una característica importante con propiedades como suavidad, aspereza o rugosidad, aleatoriedad e irregularidad. Las texturas en un material orgánico se originan a partir de la particular composición y distribución de los mismos, por lo que la estructura de la superficie no es geométrica, generalmente es aleatoria e irregular, y los elementos cambian en tamaño, orden y posición. En algunos casos la organización puede ser casi regular siguiendo un patrón geométrico, que es lo observado en la escarcha formada después de la congelación por $N_{2(L)}$.

El análisis de textura se dividió en dos partes. La primera relacionada con los cambios en los parámetros texturales en función al tiempo de muestreo de 3 min y la segunda en la comparación de los mismos parámetros en carne F manteniéndola bajo condiciones ambientales y en la fusión de carne CC y RC, bajo las mismas condiciones.

Se utilizó el procedimiento de series de tiempo, que se basa en el análisis estadístico de datos registrados en función a, como su nombre lo dice, el tiempo. En el caso de este estudio se omitieron las componentes de la variación estacional, cíclica e irregular y las tendencias se representaron como una función cuadrática o como una curva logística con crecimiento asintótico, crecimiento en forma de S o sigmoidal, analizado en Minitab como suavización Pearl-Reed.

Los principales resultados se muestran a continuación.

IV.4.4.1. Efecto del tiempo de muestreo sobre parámetros texturales.

En la Figura 4.90. se presentan los gráficos que definen la textura estadística. El gráfico (a) representa el segundo momento angular (ASM), que es una medida de la uniformidad de la imagen; este parámetro aumenta si la ocurrencia de encontrar los mismos valores de tonos de grises es la más alta, lo que indica que la textura es más lisa; cuando presenta valores bajos la ocurrencia de encontrar pares de píxeles con el mismo valor de gris va disminuyendo, lo cual expresa que la textura se va volviendo más rugosa. (Zheng y col., 2006)

El gráfico (b) representa la entropía textural (ET) como una medida que indica el grado de desorden en la imagen. A medida que se tienen mayores probabilidades de ocurrencia cerca de la diagonal principal, el valor de la entropía va descendiendo porque la textura es más uniforme y con textura más suave o menos aleatoria.

El gráfico (c) corresponde a suma de cuadrados (SOS). Este parámetro representa la varianza y como tal, la dispersión que existe entre los valores de grises en la imagen con respecto a la media, es por ello que un SOS mayor indica pares de

píxeles con valores alejados del promedio a lo largo de la matriz, es decir, se tiene una imagen más heterogénea en cuanto a los niveles de grises, expresándose en mayor rugosidad.

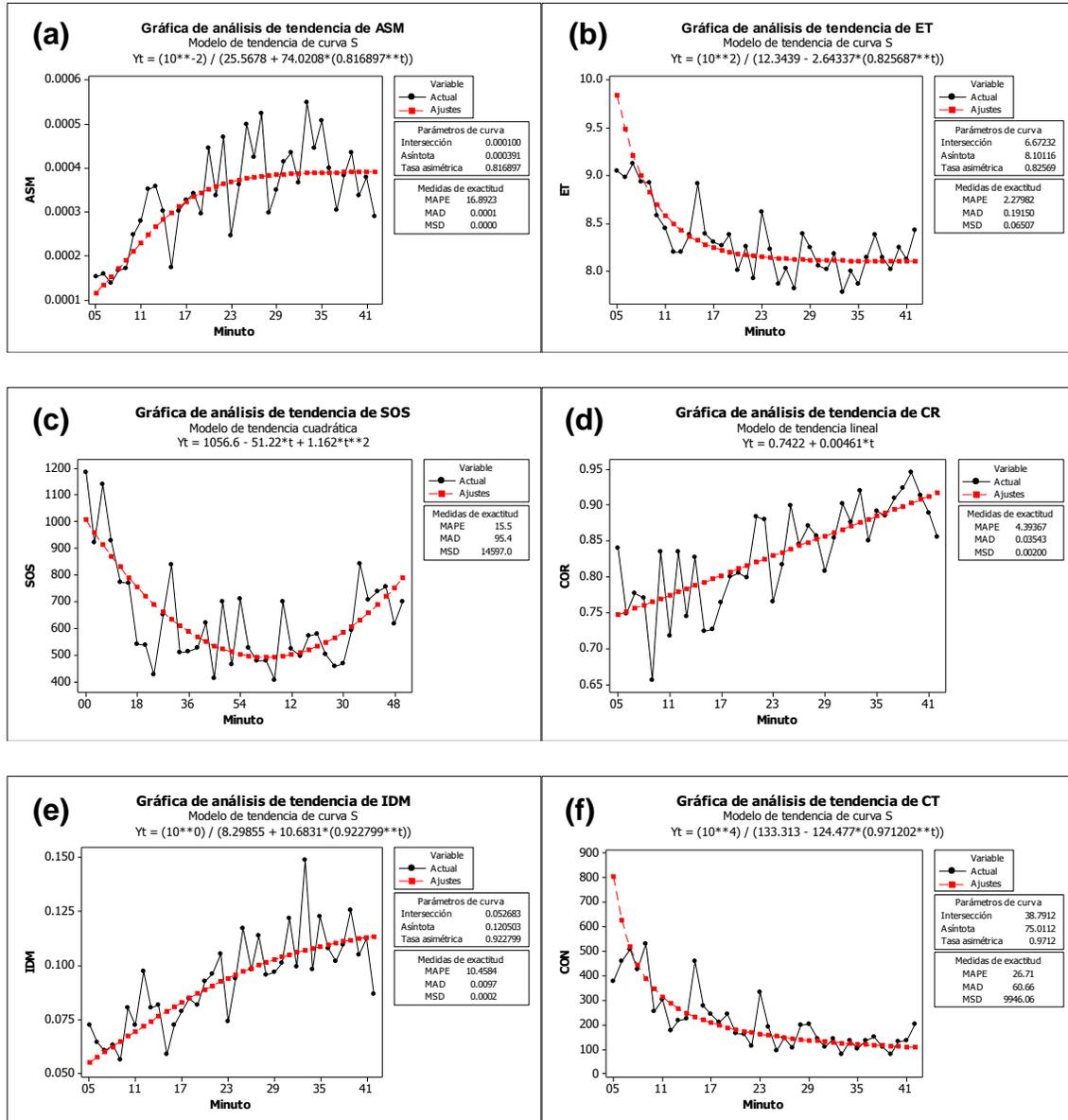


Figura 4.90. Análisis de textura estadística durante la congelación con toma de muestras cada 3 min.

El gráfico (d) o de correlación de la textura (CR) expresa la dependencia lineal existente en función a la similitud entre píxeles vecinos, está definida como la

relación entre las diferentes intensidades de los colores e implica una similitud entre pares de píxeles.

El gráfico (e) correspondiente al momento de diferencia inversa (MDI), conocido como homogeneidad y presenta la regularidad local de la textura. Valores altos indican una textura más lisa.

Por último el gráfico (f) del contraste (CT), representa las variaciones bruscas en escala de grises de un píxel de referencia con respecto a la del vecino. En una textura de características suaves y uniformes su contraste será bajo.

El comportamiento de la textura estadística durante la congelación establece que en función al tiempo de muestreo la textura del material tiende a ser lisa, uniforme y suave, menos rugosa y homogénea, con un valor de R^2 para la correlación de 54.1%, el cual, puede ser debido a la formación de escarcha superficial que modifica los parámetros y que conforme transcurre el tiempo modificaba la apariencia; cabe aclarar que la toma fotográfica se realizaba al minuto de sacar la carne de la cámara, lo que no daba estabilidad a la escarcha, que puede influir en las variaciones observadas en los gráficos.

Se analizó la dependencia de ASM con respecto a la temperatura interna, que es mostrado en la Figura 4.91., donde se observa que antes de PIC, la carne en la superficie presenta valores bajos de ASM, implicando una textura rugosa; después de éste, comienzan las oscilaciones en la uniformidad, indicando que existe un efecto de las fluctuaciones de temperatura congruentes tanto con el daño estructural como con la formación de escarcha.

En cuanto al análisis de series de tiempo, al igual que como ocurre con un crecimiento exponencial, se presentan diferentes fases; al inicio el cambio es lento, continuando con una fase de aceleración o desaceleración que es la tasa asimétrica o la pendiente en la zona. Esta tasa de asimetría mayor será la velocidad con que se produzca el acercamiento a la zona constante de la variable de respuesta.

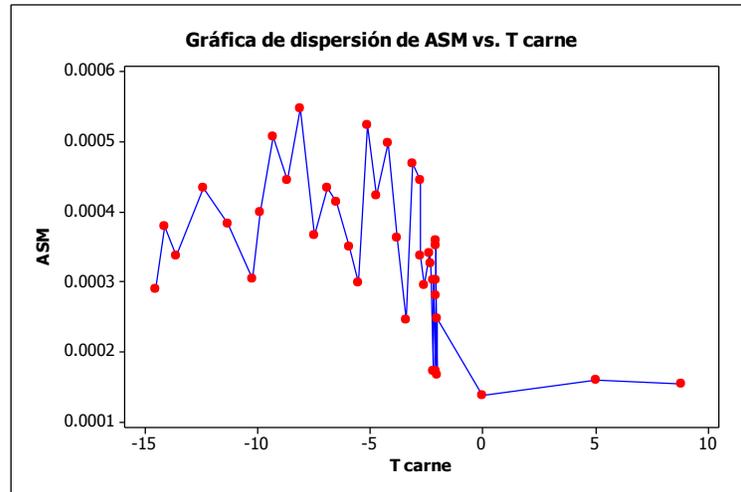


Figura 4.91. Relación entre ASM y la temperatura de carne durante la congelación.

El procedimiento de análisis de tendencia también muestra, junto con la gráfica, tres medidas para determinar la exactitud de los valores ajustados: MAPE (mean absolute percentage error o error porcentual absoluto medio), que mide la exactitud de los valores ajustados de las series de tiempo (%). MAD (mean absolute deviation o desviación absoluta media), mide la exactitud de los valores ajustados de las series de tiempo, (expresa exactitud en las mismas unidades que los datos, lo cual ayuda a conceptualizar la cantidad de error) y MSD (mean squared deviation o desviación cuadrada media) que mide la exactitud de los valores ajustados de las series de tiempo de forma que se pueden comparar los valores de MSD de diferentes modelos, por lo que los valores más pequeños generalmente indican un modelo de ajuste más adecuado. La ASM en congelación, es la que presenta menor desviación absoluta media de todas las determinaciones texturales, con valores bajos en CR y en IDM, lo cual permite nuevamente indicar que en función al tiempo, la formación de escarcha brinda una textura lisa y suave.

IV.4.4.2. Efecto la descongelación sobre parámetros texturales.

En la Figura 4.92. se presenta la comparación del comportamiento (ANOVA de una vía) para los parámetros texturales más importantes entre la carne F, CC y RC bajo las mismas condiciones ambientales. No se percibe diferencia significativa

en ASM, indicando que las muestras se consideran con textura lisa; existe diferencia en ET, con menor valor promedio en la carne RC en fusión, implicando que en la superficie de la carne existe una formación de película de agua y no de escracha, proporcionando una uniformidad en la imagen conforme transcurre el tiempo. En el caso de la carne F analizada por SOS, existen valores atípicos que modifican el valor promedio, lo cual implicaría que en función al tiempo existe una deshidratación superficial que se manifiesta en la heterogeneidad de la imagen y que es similar a lo presentado en el gráfico de CT.

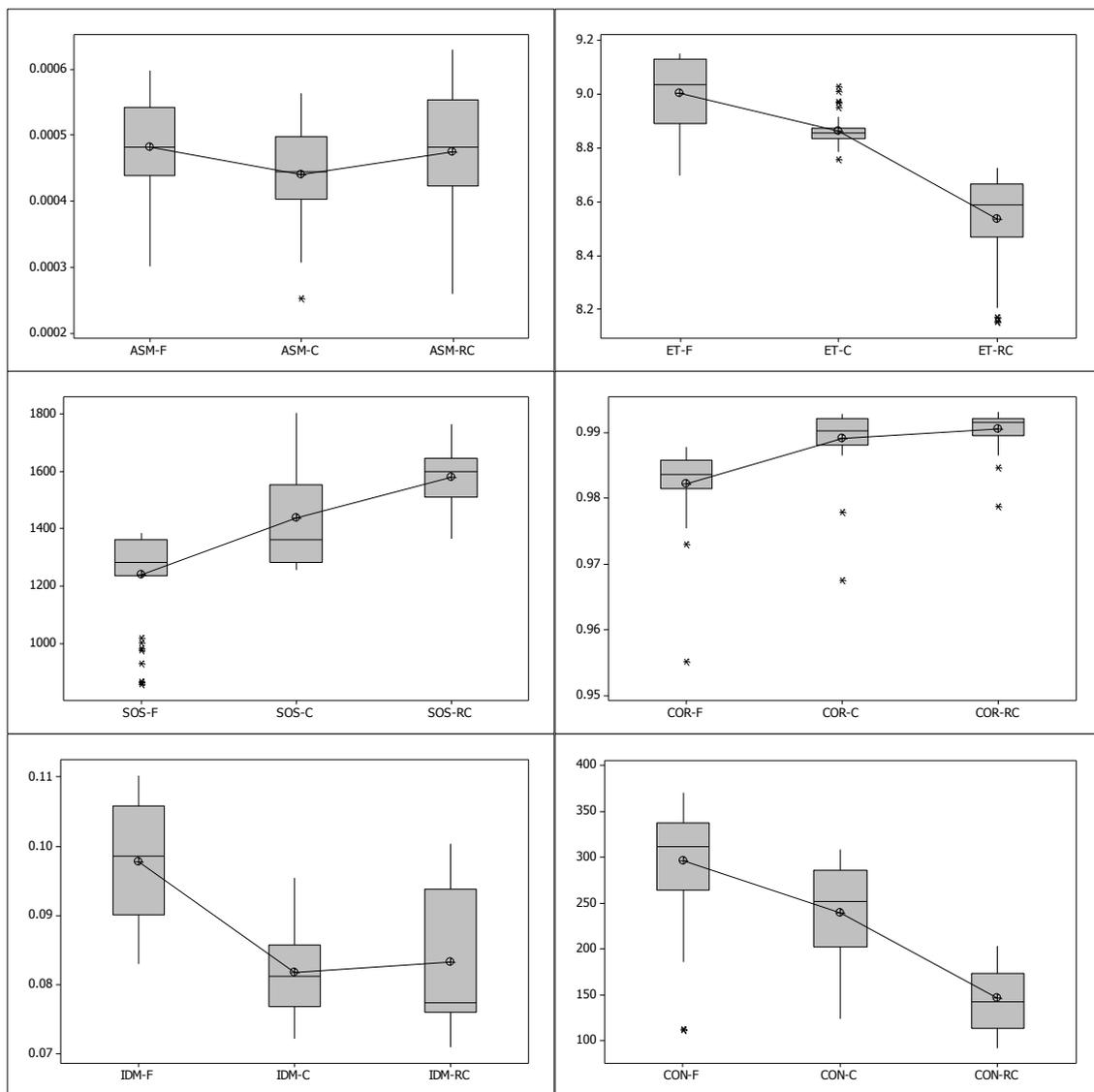


Figura 4.92. Comparaciones de parámetros texturales entre carne F, C y RC.

En este sentido el ANOVA realiza comparaciones de los valores medios, por lo que se consideró adecuado crear las ecuaciones de comportamiento en función a tiempo y al ajuste, presentándose tendencias definidas, información que se encuentra en los cuadros comparativos. Se realizó esta comparación ya que autores como Bharati, Liu y MacGregor (2004) establecen que las aplicaciones de textura estructural son muy limitados en la industria de alimentos debido a que los fundamentos utilizados sólo pueden describir texturas muy regulares, lo cual puede ser adecuado, sin embargo este tipo de análisis permitió presentar las diferencias en los tratamientos térmicos aplicados.

Como puede observarse en el Cuadro 4.23., los ajustes se representan en ecuaciones cuadráticas y/o sigmoides; ASM para F, CC y RC presentan valores bajos en la desviación absoluta media (MAD) por lo que los ajustes fueron los adecuados en el caso de la carne fresca, con un comportamiento cuadrático. ET, menor valor promedio en RC, con valores atípicos, comportamiento exponencial y mayor valor en MAPE indicando que aunque el comportamiento con valores bajos representa uniformidad en la imagen y textura suave, presenta un comportamiento diferente con respecto a los otros tratamientos térmicos.

Como parte final de esta etapa, se presenta en la Figura 4.93. un ejemplo de las fotografías analizadas bajo el contexto de la textura estadística proveniente de congelación con $N_{2(L)}$ en función al tiempo.

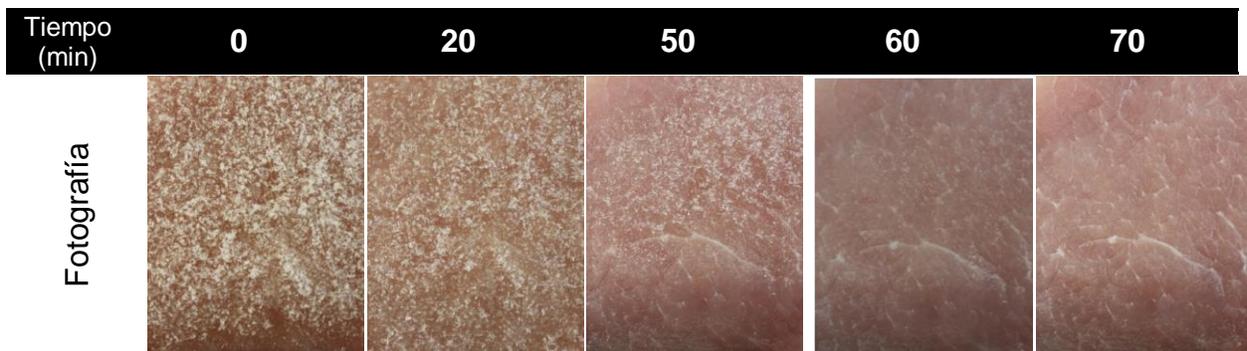


FIGURA 4.93. Fotografías sometidas a análisis de textura estadística en descongelación.

Cuadro 4.23. Ecuaciones de tendencia ajustada para variables de textura estadística en función al tiempo de fusión de escarcha.

MUESTRA	ECUACIÓN DE TENDENCIA AJUSTADA	Parámetros de curva			Parámetros de exactitud	
		Intersección	Asíntota	Tasa asimétrica	MAPE	MAD
ASM - F	$Y_t = 5.03^{-4} - (5.0^{-6})t + (0.0)t^2$				12.39	0.00
ASM - C	$Y_t = 10^{-2} / (26.3684 - (0.1824)(1.1389)^t)$	3.8×10^{-4}	3.8×10^{-4}	1.1389	13.31	1.0×10^{-4}
ASM - RC	$Y_t = 10^{-2} / (11.7712 + (17.0271)(0.9645)^t)$	3.47×10^{-4}	8.5×10^{-4}	9.645×10^{-1}	11.17	0.00
ET - F	$Y_t = 10^2 / (10.8453 + (0.0640)(1.0613)^t)$	9.17	9.22	1.06	2.4×10^{-1}	2.21×10^{-1}
ET - C	$Y_t = 10^2 / (11.3142 - (0.4187)(0.7553)^t)$	8.52	8.84	7.5×10^{-1}	4.1×10^{-1}	3.60×10^{-2}
ET - RC	$Y_t = (8.3051)(1.0013)^t$				1.37	1.16×10^{-1}
SOS - F	$Y_t = (1059.07)(1.0074)^t$				10.70	127.90
SOS - C	$Y_t = 10^4 / (7.7935 - 3.7916^{0.8864t})$	863.1700	1283.11	8.9×10^{-1}	5.10	79.70
SOS - RC	$Y_t = (1618.48)(0.9990)^t$				4.16	65.88
CR - F	$Y_t = 10^1 / (10.1597 + (0.1216)(0.8474)^t)$	9.73×10^{-1}	9.84×10^{-1}	8.47×10^{-1}	3.86×10^{-1}	3.70×10^{-3}
CR - C	$Y_t = 10^1 / (10.0939 - (0.1233)(0.8411)^t)$	9.79×10^{-1}	9.91×10^{-1}	8.4×10^{-1}	3.10×10^{-1}	3.00×10^{-3}
CR - RC	$Y_t = 10^1 / (10.1213 - (0.0151)(1.0329)^t)$	9.86×10^{-1}	9.88×10^{-1}	1.03	1.74×10^{-1}	1.70×10^{-3}

... Continuación de Cuadro 23

MUESTRA	ECUACIÓN DE TENDENCIA AJUSTADA	Parámetros de curva			Parámetros de exactitud	
		Intersección	Asíntota	Tasa asimétrica	MAPE	MAD
IDM - C	$Y_t = 10^0 / (10.12.0415 - (0.1950)(1.0205)^t)$	0.0817	0.0830	1.0205	5.6547	0.0046
IDM - RC	$Y_t = 10^0 / (13.4093 - (0.04671)(1.1281)^t)$	0.0743	0.0757	1.1213	3.4879	0.00314
CON - F	$Y_t = 10^4 / (28.2330 + (0.1800)(1.1502)^t)$	351.951	354.195	1.150	13.55	26.35
CON - C	$Y_t = 10^3 / (3.7464 + (1.5426)(0.9565)^t)$	189.071	266.923	0.957	22.36	48.55
CON - RC	$Y_t = (114.1350)(1.0111)^t$				18.504	26.666

En la Figura 4.94. se presenta el comportamiento de la dispersión de las principales variables. En las fotografías se observa como en función al tiempo de fusión la textura va modificándose, con una textura más lisa sin la presencia de escarcha superficial, así mismo, los parámetros texturales que simbolizan la suavidad de la imagen presentan un comportamiento que confirma el cambio.

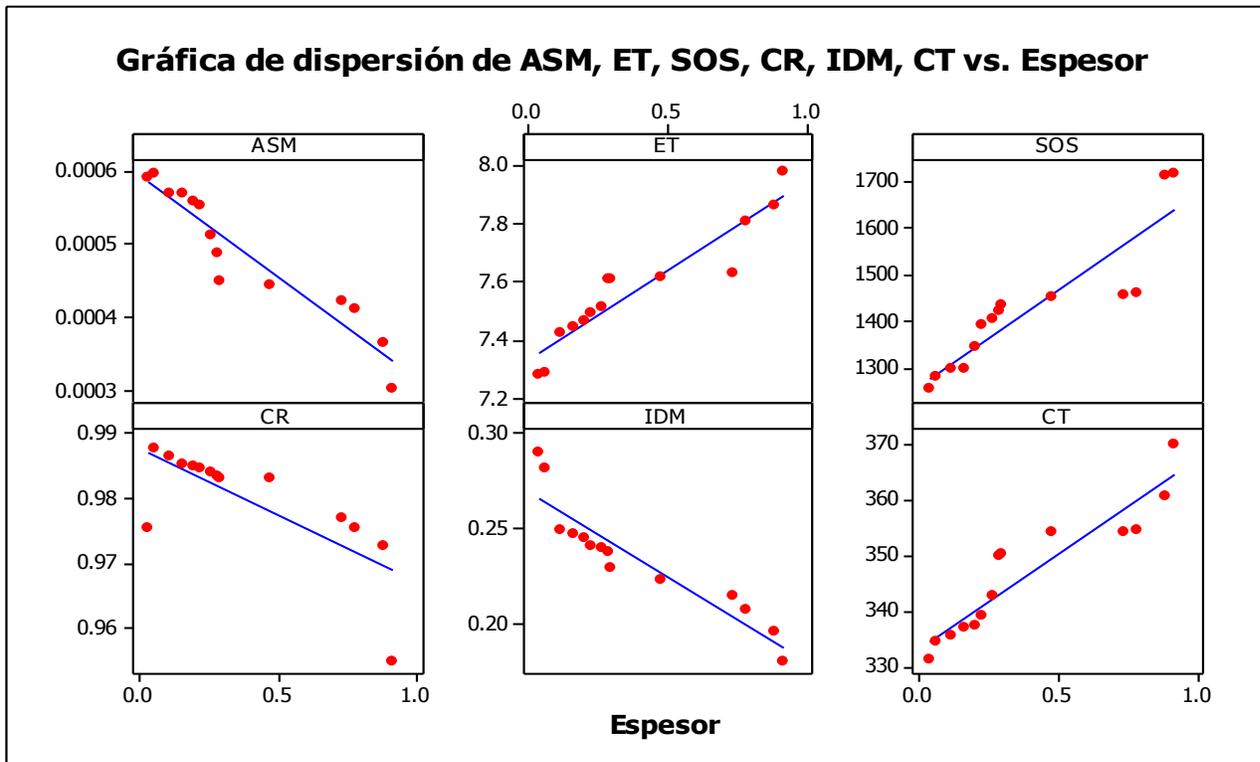


FIGURA 4.94. Gráficas de dispersión de parámetros de textura estadística en función al espesor de la escarcha en congelación por $N_{2(L)}$,

El Cuadro 4.24. contiene las ecuaciones de regresión, así como los coeficientes de determinación que establecer una correcta relación entre las variables de la textura estadística en función al tiempo de fusión de la carne congelada con $N_{2(L)}$; se resalta que es importante considerar que el eje del espesor se presenta en forma creciente y no en decreciente, por lo que se podría pensar en un comportamiento inverso.

Cuadro 4.24. Ecuaciones de correlación entre textura estadística y espesor de escarcha.

Ecuación de comportamiento	R² (%)
ASM = 0.000389 + 0.000256 esp	76.2
ET = 7.34 + 0.610 esp	88.4
SOS = 1276 + 385 esp	71.4
CR = 0.989 - 0.0234 esp	72.5
IDM = 0.269 - 0.0885 esp	85.5
CT = 336 + 27.6 esp	55.8

Se establece que al igual que Basset y colaboradores (2000); Chandraratne y colaboradores (2006); Tan y Shatadal (2001) y Quiao y colaboradores (2007) este tipo de análisis tienen el potencial para ser utilizado como un método indicando para comparar las características físicas de muestras de carne, aunque, en este caso la utilidad fuera para diferenciar el efecto de los métodos de congelación y la correlación con el espesor de la escarcha formada y no como indicador de calidad o de concordancia con otros parámetros de calidad como sería la ternura.

El que hace lo que ama, está benditamente coronado al éxito, que llegará cuando deba de llegar, porque lo que debe ser, será y llegará naturalmente.

Facundo Cabral

CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES.

Aun cuando es posible observar cambios entre una carne fresca y una descongelada, el estudio permitió establecer parámetros objetivos para diferenciar el efecto de la congelación y recongelación, desde las siguientes premisas:

- La aplicación de la calorimetría diferencial de barrido modulado bajo condiciones no isotérmicas y cuasi isotérmicas estableció el grado de modificación de las proteínas de la carne, visualizado en el Flujo de calor y cambios en C_p , en carne fresca, congelada, descongelada, recongelada, liofilizada e hidratada, estudios no reportados hasta el momento. Se verificó por infrarrojo cercano (NIR) éste tipo de modificaciones proteicas.

- Se establecieron las evidencias de los cambios en mioglobina, proteína total y enzimas. Así mismo se verificó que el efecto de las fluctuaciones de temperatura afectaron el parámetro de color (evaluados por métodos instrumentales y con el análisis de imagen por textura estadística) y propiciaron un daño en la estructura celular.

- La formación superficial de la escarcha difiere en su estructura y sus propiedades termofísicas por el tipo de interacciones del agua con el material en estudio, lo que a la fecha no ha sido reportado.

- Se cubrieron los objetivos planteados y se confirmó la hipótesis de trabajo, lo que permite establecer nuevas perspectivas de investigación, encaminadas no solo a este tipo de carne, sino a los alimentos en general, existiendo la posibilidad de establecer lineamientos generales del manejo en congelación y recongelación de materiales biológicos susceptibles a tratamientos térmicos a bajas temperaturas que tienen concordancia con otros parámetros de calidad como sería la ternura.

Los que sueñan de día son conscientes de muchas cosas que escapan a los que sueñan sólo de noche.

Edgar Allan Poe

APENDICES.

1- La conversión de músculo a carne. (Lonergan et al, 2010)

La conversión de músculo a carne es un proceso muy complejo, pues se llevan a cabo una serie de procesos interdependientes (resaltando la oxidación y proteólisis) que permiten desarrollar las cualidades de la carne (Ouali et al, 2006).

En ausencia de ATP, la actina y miosina se unen en forma irreversible; se produce la rigidez cadavérica o rigor mortis, que surge después de la muerte del animal. La interrupción de la circulación sanguínea priva al músculo del aporte de oxígeno; la respiración celular se paraliza, el potencial de oxido-reducción pasa de unos +250 a unos -50 mv y surge la glicólisis anaerobia; en estas condiciones el glucógeno en vez de degradarse en agua y anhídrido carbónico, con generación de ATP, en proporción importante a partir del ADP, se transforma en ácido láctico. Las cantidades de ATP producidas por la glicólisis anaerobia no son suficientes para compensar las pérdidas resultantes de su hidrólisis por la ATPasa sarcoplasmática; aunque la fosfocreatina suministre algo de ATP, rápidamente se agota, por otro lado, la formación de ácido láctico origina un descenso de pH, lo que a su vez inhibe progresivamente diversas enzimas. En definitiva la glicólisis se detiene aunque las reservas de glucógeno no se hayan agotado, y el contenido de ATP se aproxima a cero; es entonces cuando la actina y la miosina se unen irreversiblemente como actomiosina. A temperatura ambiente en el músculo vacuno, este proceso exige aproximadamente 8 hrs después de la muerte del animal.

El descenso del pH y la formación de enlaces entre la actina y la miosina provocan modificaciones en las cargas eléctricas y de la configuración de las proteínas del músculo. Cerca de su punto isoeléctrico (pH 5.5), las cadenas proteicas tienen tendencia a aproximarse y formar un conjunto casi cristalino; esto motiva un descenso de la capacidad de retención de agua, lo que influye desfavorablemente en la textura de la carne (Aberle and Forrest, 2001). Cuando después de la muerte no se enfría rápidamente el animal, el pH desciende rápido a un nivel muy bajo; esto puede motivar una desnaturalización de las proteínas musculares y que una gran parte del agua del gel miofibrilar se expulse hacia los

espacios intercelulares o incluso se exude fuera del tejido, con lo que la textura de la carne se modifica muy desfavorablemente.

Los mayores cambios en la arquitectura del músculo en la etapa posmortem, se da en la actina (menor cambio) y miosina (sufre oxidación agregación y degradación)

2- Colorímetro Minolta CR300



Calibración diaria previa a la realización de las mediciones. Se coloca sobre cerámico blanco que se tiene para el equipo se toma la lectura de parámetros de color L^*a^*b y se contrastarán dichos resultados con los establecidos, una vez concordando los parámetros el equipo estará listo para su uso.

Para la medición el equipo se colocó sobre la muestra de carne y se realizaron las lectura directamente, las lecturas se realizarán por triplicado variando en 4 posiciones, posteriormente se obtuvieron las medidas de tendencia central y de dispersión.

3- Aw, Pawkit Decagon Devices (Water activity meter).



La calibración se realizó de acuerdo a la manual de operación del equipo. La actividad de agua de las muestras cárnicas se realizó de acuerdo al siguiente procedimiento:

1. Abrir la compuerta de seguridad que protege al sensor medidor, dicha compuerta se encuentra en la parte inferior del equipo.
2. Posteriormente se enciende el equipo presionando el botón con leyenda (I) y se prosigue a la colocación de la muestra.
3. La carne se coloca en la charola destinada para la muestra cubriendo la tercera parte de la charola, la muestra debe ser distribuida uniformemente.
4. La charola se coloca directamente en el lector y se oprime el botón de inicio de lectura que tiene la lectura (I), después de que el equipo tome la lectura, efectúa un sonido el cual indicará la finalización de la lectura.
5. Se extrae la charola del equipo y se limpia.

4- pH Potenciómetro de punción Hanna Instruments.

El equipo deberá ser calibrado previamente a su uso para de acuerdo a lo establecido en el manual de operación del mismo. Una vez calibrado el equipo se prosiguió a la toma de pH:

1. Armar el equipo colocando el sensor adecuado para la toma de lectura directa en carne. El sensor debe ser limpiado cuidadosamente con agua destilada y con algodón.
2. Se enciende el equipo se espera a que se estabilice.
3. Se coloca la muestra de carne penetrando la misma con el potenciómetro de manera que el sensor este completamente dentro de la carne.
4. Se toma la lectura después de que el símbolo (sol) que se encuentra en la pantalla del equipo deja de parpadear.
5. Se realiza la limpieza del el sensor con agua destilada y un trozo de algodón.

5- Método de Bradford o Método con azul de Coomassie G-250.

Reactivos:

Solución de azul brillante de Coomassie G-250: Disolver 100 mg en 50 mL de etanol al 95%, agregar 100 mL de H₃PO₄ al 85% (w/v), diluir a un litro.

La cuantificación de proteína del lomo de cerdo se llevará a cabo de la siguiente manera:

1. Pipetear en un tubo de ensayo de 12x100 mm 0.1 mL de la solución de proteína conteniendo entre 10 y 100 µg.
2. Agregar 5 mL de reactivo azul de Coomassie y mezclar por inversión o vortex.
3. Medir la absorbancia a 595 nm después de dos minutos y antes de una hora. El blanco deberá contener 0.1 mL del buffer adecuado y 5 mL de reactivo de Coomassie.
4. Calcular la concentración de proteína de la muestra por interpolación en curva patrón.

6- Parámetros en pruebas enzimáticas

GOT

Hg 546	Método UV convencional (UI)	505 nm
0,020	5	0,034
0,030	7	0,047
0,040	10	0,061
0,050	14	0,080
0,060	19	0,100
0,070	23	0,115
0,080	28	0,129
0,090	31	0,146
0,100	36	0,164
0,110	41	0,180
0,120	46	0,196
0,130	50	0,210
0,140	55	0,224
0,150	61	0,239
0,160	67	0,254
0,170	74	0,269

GPT

Hg 546	Método UV convencional (UI)	505 nm
0,020	5	0,034
0,040	9	0,061
0,060	14	0,100
0,080	18	0,129
0,100	23	0,164
0,120	27	0,196
0,140	32	0,224
0,160	37	0,254
0,180	42	0,284
0,200	47	0,314
0,220	52	0,340
0,240	57	0,364
0,260	62	0,389
0,280	68	0,415
0,300	74	0,442
0,320	80	0,468
0,340	87	0,494
0,360	96	0,524
0,380	104	0,552

7- Validación de termopares

	1	2	3	4	5
Pendiente	2.9048	2.8784	2.8773	2.8659	2.8685
Ordenada	28.857	29.724	29.952	30.267	30.305
Correlación	0.9728	0.9741	0.9718	0.9716	0.9713
ORDEN	II	I	III	IV	V

	1	2	3	4	5
X	95.5714	95.5952	95.5714	95.6190	95.6190
D.S	0.6488	0.6488	0.6186	0.6598	0.5774
C.V. (%)	0.6791	0.6790	0.6474	0.6903	0.6038
ORDEN	IV	III	II	V	I

Termopar	T1	T2	T3	Promedio	ORDEN
1	4.1195	-2.0597	-2.0597	-2.753E-14	II
2	4.2568	-1.9224	-2.3344	2.7386E-14	III
3	4.3205	-2.1602	-2.1602	5.7139E-14	IV
4	4.3205	-2.1602	-2.1602	0.0000E+00	I

	T 1	T 2	T 3	T 4	T 5
Precisión	IV	III	II	V	I
Exactitud	II	III	IV	I	I
Linealidad	II	I	III	IV	V
Total	8	7	9	10	7

Termopar 1	$y=1.0114x-1.0422$	$R^2 = 0.9996$
Termopar 2	$y=1.0027x-0.3040$	$R^2 = 0.9999$
Termopar 3	$y=1.0114x-0.3888$	$R^2 = 1.0000$
Termopar 5	$y=1.0038x-0.3847$	$R^2 = 1.0000$

El esqueleto de la ciencia son los hechos, pero los músculos y los nervios son el significado que se les confiere, y el alma de la ciencia son las ideas.

Ruy Pérez Tamayo

BIBLIOGRAFÍA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abad, E., Palacio, F., Nuin, M., Zárate, A., González de Juarros, A., Gómez, J. M. and Marco, S. 2009. Rfid smart tag for traceability and cold chain monitoring of foods: Demonstration in an intercontinental fresh fish logistic chain. *Journal of Food Engineering* 93: 394-399.
2. Aberle, E. D. and Forrest, J. C. 2001. *Fundamentos de la ciencia de la carne*. Acribia, Zaragoza España. ISBN 8420004235.
3. Abril, M., Campo, M. M., Onenc, A., Sañudo, C., Alberti, P. and Negueruela, A. I. 2000. Beef colour evolution as a function of ultimate ph. *Meat Science* 58: 69-78.
4. Agnelli, M. E. and Mascheroni, R.H.. 2001. Cryomechanical freezing. A model for the heat transfer process. *Journal of Food Engineering* 47: 263-270.
5. Akyurt, M., Zaki, G. and Habeebullah, B. 2002. Freezing phenomena in ice-water systems. *Energy Conversion and Management* 43: 1773-1789.
6. Alonso, V., Campo, M. de M., Provincial, L., Roncalés, P. and Beltrán, J. A. 2010. Effect of protein level in commercial diets on pork meat quality. *Meat Science* 85: 7-14.
7. Andrés, S., Silva, A., Soares-Pereira, A.L., Martins, C., Bruno-Soares A.M. and Murray. I. 2008. The use of visible and near infrared reflectance spectroscopy to predict beef *M. longissimus thoracis et lumborum* quality attributes. *Meat Science* 217-224.
8. Añon, M. C. and Calvelo A. (1980) Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. *Weat Sience* 4: 1-19.
9. Arrondo, J. L. R. Goñi, F. M. 1998. Infrared studies of protein-induced perturbation of lipids in lipoproteins and membranes. *Chemistry and Physics of Lipids* 96: 53-68.
10. Ascolese, E., and Graziano, G. 2008. On the cold denaturation of globular proteins. *Chemical Physics Letters* 467: 150–153.
11. Astiasarán, I. y Martínez, J. A. 2000. *Alimentos. Composición y propiedades*. 1er Edición Mc Graw Hill, España. ISBN: 9788448603052
12. Badui, D. S. 2006. *Química de los Alimentos*. 4ªEdición, Pearson Education, México. ISBN: 9702606705.
13. Ballin, N. and Lametsch. R. 2008. Analytical methods for authentication of fresh vs. thawed meat – a review. *Meat Science* 80: 151-158.
14. Baroni, A. F., Sereno, A. M. and Hubinger, M. D. 2003. Thermal transitions of osmotically dehydrated tomato by modulated temperature differential scanning calorimetry. *Thermochimica Acta* 395, 237-249.

15. Basset, O., Buquet, B., Abouelkaram, S., Delacharte, P. and Culioli, J. 2000. Application of texture image analysis for the classification of bovine meat. *Food Chemistry* 69: 437-445.
16. Bertram, H., Andersen, R. and Andersen, H. 2007. Development in myofibrillar water distribution of two pork qualities during 10-month freezer storage. *Meat Science* 75: 128-133.
17. Bertram, H., Wu, Z., Vandenberg, F. and Andersen, H. 2006. NMR relaxometry and differential scanning calorimetry during meat cooking. *Meat Science* 74: 684-689.
18. Bharati, M. H., Liu, J. J. and MacGregor, J. F. 2004. Image texture analysis: methods and comparisons. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 72: 57– 71.
19. Biguria, G. and Wenzel L. A. 1970. Measurement and correlation of water frost thermal conductivity and density. *Industrial Engineering*
20. Biliaderis, C. G. 1983. Differential scanning calorimetry in food research. *Food Chemistry* 10: 239-265.
21. Bonneau, M. and Lebret, B. 2010. Production systems and influence on eating quality of pork. *Meat Science* 84: 293-300.
22. Boonsumrej, S., Chaiwanichsiri, S., Tantratian, S., Suzuki, T. and Takai, R. 2007, Effects of freezing and thawing on the quality changes of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) frozen by air-blast and cryogenic freezing. *Journal of Food Engineering* 80; 292–299.
23. Bosch, L., Tor, M., Reixach, J. and Estany, J. 2009. Estimating intramuscular fat content and fatty acid composition in live and post-mortem samples in pigs. *Meat Science* 82: 432-437.
24. Brad, K. Y. H., Frandsen, M. and Rosenvold K. 2011. Effect of ageing prior to freezing on colour stability of ovine *longissimus* muscle. *Meat Science* 88: 332-337.
25. Brown, W. D. and Dolev, A. 1962 Effect of Freezing on Autoxidation of Oxymyoglobin Solutions. *Journal of Food Science*. 28: 207-209
26. Brunton, N. P., Lying, J. G., Zhang, L. and Jacquier, J.C. 2006. The use of dielectric properties and other physical analyses for assessing protein denaturation in beef *Biceps femoris* muscle during cooking from 5 to 85°C. *Meat Science* 72: 236-244.
27. Campañone, L. A., Salvatori, V. O. and Mascheroni, R. H. 2001. Weight loss during freezing and storage of unpackaged foods. *Journal of Food Engineering* 47: 69-79.
28. Cannata, S., Engle, T. E., Moeller, S. J., Zerby, H. N., Radunz, A. E., Green, M. D., Bass, P. D. and Belk, K. E. 2010. Effect of visual marbling on sensory properties and quality traits of pork loin. *Meat Science* 85: 428-434.

29. Carballo, J., Cofrades, S., Solas, M. T. and Jimenez-Colmenero, F. 2000. High pressure/thermal treatment of meat batters prepared from freeze-thawed pork. *Meat Science* 54: 357-364.
30. Carciofi, B. A. M., Faistel, J., Aragaño, G. M. F. and Laurindo A. J. B. 2002. Determination of thermal diffusivity of mortadella using actual cooking process data. *Journal of Food Engineering* 55: 89-94
31. Cardenia, V., Rodriguez-Estrada, M. T., Cumella, F., Sardi, L., Della Casa, G. and Lercker, G. 2011. Oxidative stability of pork meat lipids as related to high-oleic sunflower oil and vitamin E diet supplementation and storage conditions. *Meat Science* 88: 271-279.
32. Chan, J. T. Y., Omana, D. A. and Betti, M.. 2011. Effect of ultimate pH and freezing on the biochemical properties of proteins in turkey breast meat. *Food Chemistry* 127: 109-117.
33. Chandraratne, M., Kulasiri, D., Frampton, C., Samarasinghe, S. and Bickerstaffe, R. 2006. Prediction of lamb carcass grades using features extracted from lamb chop images. *Journal of Food Engineering* 74: 116-124.
34. Chang, H. D. and Tao, L. C. 1981. Correlations of enthalpies of food systems. *Journal of Food Science* 46: 1493-1497.
35. Chatterji, S. 1999. Aspects of the freezing process in a porous material–water system. Part 1. Freezing and the properties of water and ice. *Cement and Concrete Research* 29: 627-630.
36. Chavalier, D., Le, B. A. and Ghouil, M. 2000 (a). Freezing and ice crystal formed in a cylindrical food model: Part II. Comparison between freezing at atmospheric pressure and pressure-shift freezing. *Journal of Food Engineering* 46: 287-293.
37. Chavalier, D., Le, B. A. and Ghouil, M. 2000 (b), Freezing and ice crystals formed in a cylindrical food model: part I. Freezing at atmospheric pressure. *Journal of Food Engineering* 46: 277-285.
38. Cheftel, J. C., Cheftel, H., and Pierre, B. 1992. *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Acribia, Zaragoza España. 4° ed. ISBN: 9788420005126.
39. Chen C. S. 1987. Relation between water activity and freezing point depression of food systems. *Journal of Food Science* 52 (2): 433-435.
40. Chen, K-Y, Shaw, Y-C. 2011. Applying back propagation network to cold chain temperature monitoring. *Advanced Engineering Informatics* 2: 11-22.
41. Chen, M.-T., Yang, W-D. and Guo, S-L. 1988. Differentiation between fresh beef and thawed frozen beef. *Meat Science* 24: 223-226.
42. Cheng, C-H. and Cheng, Y-C. 2001. Predictions of frost growth on a cold plate in atmospheric air. *International Communications in Heat and Mass Transfer* 28: 953-962.

43. Cheng, C-H. and Shiu, C-C. 2002. Frost formation and frost crystal growth on a cold plate in atmospheric air flow. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 45: 4289-4303.
44. Choi, Y. M., and Kim, B. C.. 2009. Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. *Livestock Science* 122: 105-118.
45. Coultate, T.P. 1996. *Manual de Química y Bioquímica de los alimentos*. Editorial Acribia. España. ISBN: 8420010898.
46. Cruz, R. M. S., Vieira, M. C. and Silva, C. L. M. 2009. Effect of cold chain temperature abuses on the quality of frozen watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.). *Journal of Food Engineering* 94: 90-97.
47. Delgado, A. E. and Sun D-W. 2001 Heat and mass transfer for predicting freezing processes -A review. *Journal of Food Engineering* 47: 157-174
48. Deng, Y. K., Rosenvold., A.H. Karlsson., P. Horn., J. Hedegarrd., C.L. Steffensen and H.J. Andersen, 2002. . Relationship between thermal denaturation of porcine muscle proteins and water-holding capacity. *Journal of Food Science* 67:1642-1647.
49. Diéguez, P. M., Beriain, M. J., Insausti, K. and Arrizubieta, M. J.. 2010. Thermal analysis of meat emulsion cooking process by computer simulation and experimental measurement. *International. Journal of Food Engineering* 6(1): 1-19.
50. Do, G-S, Sagara, Y., Tabata, M., Kudoh, K. and Higuchi, T. 2004. Three-dimensional measurement of ice crystals in frozen beef with a micro-slicer image processing system. *International Journal of Refrigeration* 27: 184-190.
51. Ellerbroek, L. I., Lichtenberg, G. and Weise, E. 1994. Differentiation Between Fresh and Thawed Meat by an Enzyme Profile Test. *Meat Science* 40: 203-209.
52. Farouk, M. M. and Swan J. E. 1998. Effect of muscle condition before freezing and simulated chemical changes during frozen storage on the pH and colour of beef. *Meat Science* 50: 245-256.
53. Fennema, O. R., *Química de los alimentos*. 2010. Acribia 3° ed., España. ISBN: 9788420011424.
54. Fern, A. 2008. *La Cristalización como proceso de separación*. Prensas Universitarias de Zaragoza ISBN: 978-84-7733-977-9
55. Fernández, P. P., Sanz, P. D., Molina-García, A. D., Otero, L., Guignon, B. and Vaudagna, S. R. 2007. Conventional freezing plus pressure-low temperature treatment: Physical properties, microbial quality and storage stability of beef meat. *Meat Science* 77: 616-625.
56. Fernández-Martín, F., Otero, L., Solas M. T., and Sanz, P.D. 2000. Protein denaturation and structural damage during high-pressure-shift freezing of porcine and bovine muscle. *Journal of Food Science* 65: 1002-1008.

57. Flores, J. and Bermell, S. 1984. Propiedades funcionales de las proteínas miofibrilares: capacidad de retención de agua. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos* 24:15-24.
58. Fossa, M., and Tanda, G.. 2010. Frost formation in vertical channels under natural convection. *International Journal of Multiphase Flow* 36: 210-220.
59. Franke, K. 2000. A new approach for the numerical calculation of freezing and thawing processes of foods using a modified fictitious heat flow method. *Journal of Food Engineering* 44: 23-29.
60. García-Esteban, M., Ansorena, D., Gimeno, O. and Astiasarán, I. 2003. Optimization of instrumental color analysis in dry-cured ham. *Meat Science* 63: 287-292.
61. Gatica, J. A., Pita, V. A., y Lobo N. de C., (2009) Simulación del depósito de escarcha en superficies frías. *Información Tecnológica*. 20(2), 113-126.
62. Gómez-Moreno, C. and Sancho, S. J. 2003. Estructura de proteínas. España. Ariel, S.A. 1º ed. ISBN: 8434480611.
63. Gooding, J., Holmer S., Carr S., Rincker P., Carr T., Brewer M., McKeith F. & Killefer J. (2009). Characterization of striping in fresh, enhanced pork loins. *Meat Science* 81;364–371.
64. Gormley, R., Walshe, T., Hussey, K. and Butler, F. 2002. The effect of fluctuating vs. constant frozen storage temperature regimes on some quality parameters of selected food products. Elsevier Science. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol* 35: 190–200.
65. Goswami, D. Y. 2010. Cryogenics in food processing. *International Journal of Food Engineering*. 6: 1-18.
66. Graceffa, P. and Dominguez. R. 2003. Crystal structure of monomeric actin in the ATP state. Structural basis of nucleotide-dependent actin dynamics. *Biol. Chem.* 278: 34172-34180
67. Gregory, N. G. 2010. How climatic changes could affect meat quality. *Food Research International* 43: 1866-1873
68. Guizani, N., Al-Saidi, G. S., Rahman, M. S., Bornaz, S. and Al-Alawi, A. A. 2010. State diagram of dates: Glass transition, freezing curve and maximal-freeze-concentration condition. *Journal of Food Engineering* 99: 92-97.
69. Hansen, E., Lauridsen, L., Skibsted, L., Moawad, R. and Andersen, M. 2004. Oxidative stability of frozen pork patties: Effect of fluctuating temperature on lipid oxidation. *Meat Science* 68: 185-191.
70. Haralick, R. M. (1979) Statistical and structural approaches to texture. *Proceedings of the IEEE*, 67, 786-804.
71. James, C., Vincent, C., Deandradelima, T. and James, S. 2006. The primary chilling of poultry carcasses—a review. *International Journal of Refrigeration* 29: 847-862.

72. James, S. 1996. The chill chain "from carcass to consumer ". Meat Science 43: S203-S216.
73. Jaramillo-Flores, M. E. and Hernández-Sánchez, H. 2000. Thermal diffusivity of soursop (*Annona muricata* L.) pulp. Journal of Food Engineering 46: 139-143.
74. Jeong, D. W., Choi, Y. M., Lee, S. H., Choe, J. H., Hong, K. C., Park, H. C. and Kim, B. C. 2010. Correlations of trained panel sensory values of cooked pork with fatty acid composition, muscle fiber type, and pork quality characteristics in berkshire pigs. Meat Science 86: 607-615.
75. Ji, J.-R. and Takahashi, K. 2006. Changes in concentration of sarcoplasmic free calcium during post-mortem ageing of meat. Meat Science 73: 395-403.
76. Jiménez-Colmenero, F., Pintado, T., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C. and S. Bastida. 2010. Production variations of nutritional composition of commercial meat products. Food Research International 43: 2378-2384.
77. Joseph, P., Suman, S. P., Li, S., Beach, C. M. and Claus, J. R.. 2010. Mass spectrometric characterization and thermostability of turkey myoglobin. LWT - Food Science and Technology 43: 273-278.
78. Kasapis, S. 2010. Relation between the structure of matrices and their mechanical relaxation mechanisms during the glass transition of biomaterials: A review. Food Hydrocolloids. In press: 1-9.
79. Kiani, H. and Sun, D-W. 2011. Water crystallization and its importance to freezing of foodes: a review. Trends in Food Science & Technology 22: 407-426.
80. Kim, K-H., Ko, H-J., Kim, K., Kim, Y-W. and Cho, K-J.. 2009. Analysis of heat transfer and frost layer formation on a cryogenic tank wall exposed to the humid atmospheric air. Applied Thermal Engineering 29: 2072-2079.
81. Kirk, R.S., Sawyer, R. and Egan, H. 1996. Composición y análisis de alimentos de Pearson, Ed. CECSA, 2º ed. México. ISBN: 9789682616402.
82. Koutsoumanis, K Taoukis, P. S. and Nychas G. J. E. 2005. Development of a safety monitoring and assurance system for chilled food products. International Journal of Food Microbiology 100: 253-260.
83. Kozak, M. 2009. Analyzing one-way experiments: a piece of cake or a pain in the neck?. Scientia Agricola. 66:556-562.
84. Labuza, T. P. and Hyman, C. R. 1998. Moisture migration and control in multi-domain foods. Trends in Food Science & Tecnology. 9: 47-55.
85. Laguerre, O. and Flick, D. 2007. Frost formation on frozen products preserved in domestic freezers. Journal of Food Engineering 79: 124-136.
86. Lawrie, R. A., 1998. Ciencia de la Carne, 3er. ed., Edit. Acribia, España.
87. Lee, H. 2004. Frost formation on a plate with different surface hydrophilicity. International Journal of Heat and Mass Transfer 47: 4881-4893.

88. Lee, Y. and Ro, S.. 2005. Analysis of the frost growth on a flat plate by simple models of saturation and supersaturation. *Experimental Thermal and Fluid Science* 29: 685-696.
89. Lind, I. 1991. The measurement and prediction of thermal properties of foods during freezing and thawing - A review with particular reference to meat and dough. *Journal of Food Engineering*, 13, 285-319.
90. Lonergan, E. H., Zhang, W. and Lonergan, S. M.2010. Biochemistry of postmortem muscle — Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science* 86:184-195.
91. Luciano, G., Monahan, F. J., Vasta, V., Pennisi, P., Bella, M. and Priolo, A. 2009. Lipid and colour stability of meat from lambs fed fresh herbage or concentrate. *Meat Science* 82: 193-199.
92. Madrid, V. A., Gómez- Pastrana R. J. M., Regidor F. S., Madrid, V. J. M., and Madrid, C.J. 2003. *Tecnología de la Congelación*_ AMV Ediciones, Mundi-Prensa. España.
93. Mago, P. J. and Sherif, S. A. 2004. Frost formation and heat transfer on a cold surface in ice fog. *International Journal of Refrigeration*, 28, 538-546.
94. Mancini, R., and Hunt, M. 2005. Current research in meat color. *Meat Science* 71: 100-121.
95. Mannapperuma, J. D. and Singh R. P. 1998. A computer-aided method for the prediction of properties and freezing/thawing times of foods. *Journal of Food Engineering* 9: 275-304.
96. Martino, M. N. and Zaritzky, N, E. 1989. Ice recrystallization in a model system and in frozen muscle tissue. *Cryobiology* 26: 138-148.
97. Martino, M. N., Otero, L. Sanz, P. D. and Zaritzky, N. E. 1998. Size and location of ice crystals in pork frozen by high-pressure-assisted freezing as compared to classical methods. *Meat Science* 50: 303-313.
98. McKellar, A., Paterson, J. and Pham, Q. T. 2009. A comparison of two models for stresses and strains during food freezing. *Journal of Food Engineering* 95: 142-150.
99. Menegalli, F. C. and Calvelo, A. 1979. Dendritic growth of ice crystals during the freezing of beef. *Meat Science* 3: 179-198.
100. Mietsch, F., Halasz, A. and Farkas, J. 1994. Investigations of changes in meat proteins during frozen storage. *Die Nahrung* 38:47-52.
101. Miltner, H., Van Assche, G., Pozgay, A., Pukánsky, B. and Van Mele, B.. 2006. Restricted chain segment mobility in poly (amide)6/Clay nanocomposites evidenced by quasi-isothermal crystallization. *Polymer* 47: 826-35.
102. Molina-García, A. Otero, L., Martino, M. N. Zaritzky, N. E., Arabas, J., Szczepek, J. and Sanz P. D. 2004. Ice vi freezing of meat: Supercooling and ultrastructural studies. *Meat Science* 66: 709-718.

103. Mortensen, M., Andersen, H., Engelsen, S. and Bertram, H. 2006. Effect of freezing temperature, thawing and cooking rate on water distribution in two pork qualities. *Meat Science* 72: 34-42.
104. Moureh, J., Letang, G., Palvadeau, B. and Boisson, H. 2009. Numerical and experimental investigations on the use of mist flow process in refrigerated display cabinets. *International Journal of Refrigeration* 32: 203-219.
105. Murakami, E. G., Sweat, V. E., Sastry, S. K., Kolbe, E., Hayakawa, K. and Datta, A. 1996. Recommended design parameters for thermal conductivity probes for nonfrozen food materials. *Journal of Food Engineering* 27: 109-123.
106. Murphy, R. H., Marks, B. P. and Marcy, J. A. 1998. Apparent specific heat of chicken breast patties and their constituent proteins by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science* 4: 88-91.
107. Nusbaum, R. P., Sebranek, J. G., Topel, D. G and Rust, R. E.1983. Structural and palatability relationships in frozen ground beef patties as a function of freezing treatments and product formulation. *Meat Science* 8:135-146.
108. Ngapo, T. M., Babare, I. H., Reynolds, J. and Mawson, R. F. 1999. Freezing rate and frozen storage effects on the ultrastructure of samples of pork. *Meat Science* 53: 159-168.
109. Nychas, G., Skandamis, P., Tassou, C. and Koutsoumanis. K. 2008. Meat spoilage during distribution. *Meat Science* 78: 77-89.
110. Olguí, M., Viviana O. Salvadori, V. O., Mascheroni, R. H. & Tarzia D. A. 2008. An analytical solution for the coupled heat and mass transfer during the freezing of high-water content materials. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 51: 4379–4391.
111. Pai, J S. 2003. Nutritional Value of Frozen Foods. Freezing/Nutritional Value of Frozen Foods. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. 2740-2747.
112. Palm, Ch. 2004. Color texture classification by integrative Co-occurrence matrices. *Pattern Recognition*. 37: 965-976.
113. Patra, A., Puchala, R., Animut, G., Gipson, T., Sahl, T. and Goetsch, A. 2009. Effects of acclimatization on energy expenditure by meat goats. *Small Ruminant Research* 81: 42-54.
114. Perry, R. H., Green, D. W. and Maloney, J. O. 1999. Perry's Chemical Engineers handbook. Ed. McGraw-Hill, septima edición. ISBN 0-07-049841-5.
115. Pham, Q. 1987. Moisture transfer due to temperature changes or fluctuations. *Journal of Food Engineering* 6: 33-49.
116. Pham, Q. 1996. Prediction of calorimetric properties and freezing time of foods from composition data. *Journal of Food Engineering* 30: 95-107.
117. Pham, Q. T. and Willix, J. 1989. Thermal conductivity of fresh lamb meat, of falls and fat in the range -40 to 30°C: Measurements and correlations. *Journal of Food Science* 54: 508-517.

118. Pham, Q. T., Wee, H. K., Kemp, R. M. and Lindsay, D. T. 1994. Determination of the enthalpy of foods by adiabatic calorimeter. *Journal of Food Engineering* 21: 137-156.
119. Pham, Q.T. 2006. Modelling heat and mass transfer in frozen foods: a review. *International Journal of refrigeration* 29: 876-888.
120. Prieto, N., Andres, S., Giraáldez, F. J., Mantecón, A. R and Lavin, P., 2008. Ability of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to estimate physical parameters of adult steers (oxen) and young cattle meat samples. *Meat Science* 79: 692-699.
121. Prieto, N., Roehe, R., Lavin, P., Batten, G. and Andres, S. 2009. Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Science* 83: 175-186.
122. Qiao, J., Wang, N., Ngadi, M., Gunenc, A., Monroy, M., Gariepy, C. and Prasher, S. 2007. Prediction of drip-loss, ph, and color for pork using a hyperspectral imaging technique. *Meat Science* 76: 1-8.
123. Qu, K., Komori, S. and Jiang, Y. 2006. Local variation of frost layer thickness and morphology. *International Journal of Thermal Sciences* 45: 116-123.
124. Rabel, S. R., Jona, J. A. and Maurin, M. B. 1999. Applications of Modulated Differential Scanning Calorimetry in Preformulation Studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 21: 339-345.
125. Rahman, M. S. 1994. The accuracy of prediction of the freezing point of meat from general models. *Journal of Food Engineering* 21:127-136.
126. Rahman, M. S. 2010. Food stability determination by macro–micro region concept in the state diagram and by defining a critical temperature. *Journal of Food Engineering* 99: 402-416.
127. Ranken, M. D. 2003. *Manual de la industria cárnica*. Multi-prensa. España.
128. Reading, M. and Hourstone, D. 2006 *Modulated temperature differential scanning calorimetry: Theoretical and practical applications in polymer characterization*. Netherlands, Springer.
129. Ripoll, G., Albertí, P., Panea, B., Olleta, J.L. and Sañudo, C. 2008. Near-infrared reflectance spectroscopy for predicting chemical, instrument and sensory quality of beef. *Meat Science* 80: 697-702.
130. Rousseau, J. J.1998. *Basic Crystallography*. John Wiley & Sons. ISBN: 978-0-471-97049-1
131. Sahin, A. Z. 2000. Effective thermal conductivity of frost during the crystal grow period. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 43: 539-553.
132. Saidur, R., Masjuki, H. H. and Choudhury, I. A. 2002. Role of ambient temperature, door opening, thermostat setting position and their combined effect on refrigerator-freezer energy consumption. *Energy Conversion and Management* 43: 845-854.

133. Sakata, R. and Nagata, Y. 1992. Heme pigment content in meat as affected by the addition of curing agents. *Meat Science* 32: 343-350.
134. Sakata, R., Oshida, T., Morita, H. and Nagata, Y. 1995. Physico-chemical and processing quality of porcine *M. longissimus dorsi* frozen at different temperatures. *Meat Science* 39: 277-284.
135. Sanz, P.D., de Elvira, C., Martino, M., Zaritzk, N., Otero, L. and Carrasco, J. A. 1999. Freezing rate simulation as an aid to reducing crystallization damage in foods. *Meat Science* 52: 275-278.
136. Sañudo, C. 2006. Conferencia: Calidad de la canal y de la carne en los ovinos: factores que la determinan. *Revista Argentina de producción animal* 26: 155-167.
137. Sawyer, J. Y., Baublits, R. T., Apple, J. K., Meullent, J.-F. Johnson, Z. B. and Alpers, T. K. 2007. Lateral and longitudinal characterization of color stability, instrumental tenderness, and sensory characteristics in the beef *semimembranosus*. *Meat Science* 75: 575-584.
138. Schmidt, S. J and Won Lee, J. W. 2009 How Does the Freezer Burn Our Food? *Journal of Food Science Education* 8:45-52.
139. Schwartzberg, H.G.1978. Effective heat capacities for the freezing and thawing of food. *Journal of Food Science* 41: 152–156.
140. Secretaría de Economía (SE), la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y el Banco Nacional de Comercio Exterior, S.N.C. (BANCOMEXT), PC-003-2004- Pliego de condiciones para el uso de la marca oficial México calidad suprema en carne de bovino.
141. Singh, K. J., and Roos, Y. H. 2005. Frozen state transitions of sucrose–protein–cornstarch mixtures. *Journal of Food Science* 70; 198–204.
142. Singh, R. P. (1989). Thermal diffusivity in food processing. *Food Technology*, 36(2), 90.
143. Smith, D. M. 1987. Functional and biochemical changes in Deboned turkey due to frozen storage and liupis oxidation. . *Journal of Food Science* 52: 22-27.
144. Straadt, I., Rasmussen, M., Andersen, H. and Bertram, H. 2007. Aging-induced changes in microstructure and water distribution in fresh and cooked pork in relation to water-holding capacity and cooking loss – A combined confocal laser scanning microscopy (CLSM) and low-field nuclear magnetic resonance relaxation study. *Meat Science* 75: 687-695.
145. Suman, S. P., Joseph, P., Li, S., Steinke, L. and Fontaine, M. 2009. Primary structure of goat myoglobin. *Meat Science* 82: 456-460.
146. Sun, D-W. and Xing, Z. 1999. Effect of heat transfer direction on the numerical prediction of beef freezing processes *Journal of Food Engineering* 42: 45-50.
147. TA Instruments. 2000. Manual Modulated Differential Scanning Calorimetry (MDSC) Q2000.

148. Tirado, M. C., Clarke, R., Jaykus, L. A., Mc Quatters-Gollop, A. and Frank, J. M. 2010. Climate change and food safety: A review. *Food Research International* 43: 1745-1765.
149. Tocci, A. M., Flores, E. S. E and Mascheroni, R. H. 1997. Heat capacity and thermal conductivity of boneless mutton between -40 and + 40 °C. *Lebensm.-Wiss.u.- Technol*, 30: 184-191.
150. Tocci A. M. and Masheroni, R. H. 1995. Numerical models for the simulation of the simultaneous heat and mass transfer during food freezing and storage. *International Communications in Heat and Mass Transfer*. 22 (2): 251-260.
151. Toldra, F., Torrero, Y. and Flores J. 1990. Simple test for differentiation between fresh pork and frozen/thawed pork. *Meat Science* 29: 177-181.
152. Toledano, M. 2009. *Ciencia e Ingeniería de Materiales: Estructura, Propiedades y Fractura*. Instituto Nacional de T. ISBN: 978-84-8408-504-1
153. Troy, D. J., and Kerry, J. P. 2010. Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Science* 86: 214-226.
154. Turhan, S. N., Ustun, S. and Bank, I. 2006. Effect of freeze–thaw cycles on total and heme iron contents of bonito (*Sarda sarda*) and bluefish (*Pomatomus saltator*) fillets. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 384–387.
155. Uddin, M., Okazaki, E., Ahmad, M. U., Fukuda, Y. and Tanaka, M. 2006. NIR spectroscopy: A non-destructive fast technique to verify heat treatment of fish-meat gel. *Food control* 17: 660-64.
156. Umaña, C. E. 2007 *Conservación de alimentos por frío. Refrigeración/Congelamiento*. Fundación para la innovación tecnológica agropecuaria.
157. Van der Sman, R. G. M. and Boer, E. 2005. Predicting the initial freezing point and water activity of meat products from composition data. *Journal of Food Engineering* 66: 469-475.
158. Vanaclocha, A. C., Requena, C. J. A and Abril, J. 2003. *Procesos de Conservación de Alimentos*. Vicente Ediciones y Ediciones MundiPrensa. 2ª edición, España. 289-321.
159. Vanhaecke, L., Verbeke, W. and De Brabander, H. F. 2010. Glazing of frozen fish: Analytical and economic challenges. *Analytica Chimica Acta* 672: 40-44.
160. Vekilov, P. G., Feeling-Taylor, A. R., Dimiter N. Petsev, D. N., Galkin, O., Nagel, R. L. and Rhoda Elison Hirsch, R. E. 2002. Intermolecular Interactions Nucleation, and Thermodynamics of, Crystallization of Hemoglobin C. *Biophysical Journal* 83: 1147–1156
161. Verdonck, E., Schaap K. and Thomas. L. C. 1999. Discussion of the Principles and Applications of Modulated Temperature DSC (MTDSC). *International Journal of Pharmaceutics* 192: 3-20.

162. Vidacek, S., H. Medic, K. Botkapetrak, J. Nezak, and T. Petrak. 2008. Bioelectrical impedance analysis of frozen sea bass (*dicentrarchus labrax*). *Journal of Food Engineering* 88: 263-271.
163. Wang, C-C., Huang, R-T., Sheu W-J. and Chang, Y-J. 2004. Some observations of the frost formation in free convection: With and without the presence of electric field. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 47: 3491-3505.
164. Wolfe, J., Bryant, G. and Koster, K. L. 2002. What is 'unfreezable water', how unfreezable is it and how much is there? *CryoLetters* 23: 157-166.
165. Xia, X., Kong, B., Liu, Q. and Liu, J. 2009. Physicochemical change and protein oxidation in porcine longissimus dorsi as influenced by different freeze–thaw cycles. *Meat Science* 83: 239-245.
166. Yaomin, L., Zhongliang, L. and Lingyan H. 2012. Experimental and theoretical investigations of the fractal characteristics of frost crystals during frost formation process. *Experimental Thermal and Fluid Science* 36: 217–223.
167. Yu, J. Tang, S., Bao, E., Miao, Z., Qingqing, M. Z. and Zhenghua, Y. 2009. The effect of transportation on the expression of heat shock proteins and meat quality of *M. longissimus dorsi* in pigs. *Meat Science* 83: 474-478.
168. Zheng, Ch., Sun, D., Zheng, L. (2006). Recent applications of image texture for evaluation of food qualities –a review. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 113-128.
169. Zhang, M., De Baerdemaeker, J., & Schrevens, E. (2003). Effects of different varieties and shelf storage conditions of chicory on deteriorative color changes using digital image processing and analysis. *Food Research International*, 36(7), 669–676.
170. Zhou, G. H., Xu, X. L. and Liu, Y. 2010. Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science* 86: 119-128.
171. Zhu, M. J., Mendonca, A. and Ahn, D. U. 2004. Temperature abuse affects the quality of irradiated pork loins. *Meat Science* 67: 643-649.

NORMAS CONSULTADAS:

- NOM-009-ZOO-1994
- NOM-018-ZOO-1994
- NOM-014-ZOO-1994
- NOM-015-ZOO-1994
- NOM-023-ZOO-1995
- NOM-034-ZOO-1996
- NOM-029-ZOO-1995

- NMX-FF-081-SCFI-2003.Productos Pecuarios- Carne de Porcino en Canal- Calidad de la Carne – Clasificación. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/v1/ganaderia/NOM/nmx-ff-081-scfi-2003.pdf>. Publicada el 26 de junio de 1996.
- NMX-FF-081-SCFI-2003.Productos Pecuarios- Carne de Porcino en Canal- Calidad de la Carne – Clasificación. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/v1/ganaderia/NOM/nmx-ff-081-scfi-2003.pdf>. Publicada el 26 de junio de 1996.
- S.N.C. (BANCOMEXT), PC-003-2004- *Pliego de condiciones para el uso de la marca oficial México calidad suprema en carne de bovino.*

PAGINAS ELECTRÓNICAS CONSULTADAS:

- <http://www.cnog.org.mx> (Confederación Nacional de Organizaciones Ganaderas)
- <http://www.sagarpa.gob.mx>
- <http://www.cemue.com.mx>
- <http://www.mexicocalidadsuprema.com>.
- <http://www.senasica.gob.mx>
- <http://www.fao.org>
- <http://www.aenormexico.com>
- <http://www.produccion-animal.com.ar>
- <http://www.tabladealimentos.net>
- <http://biol3medio>
- <http://www.dietas.net/tablas-y-calculadoras/tabla-de-composicion-nutricional-de-los-alimentos/carnes-y-derivados/cerdo/lomo-de-cerdo.html>
- <http://www.odepa.gob.cl/> Echávarri Vesperinas. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias ODEPA (2009). La carne de cerdo.
- <http://www.produccion-animal.com.ar>
- <http://www.fundacioncardiologica.org/protectores/fichas/cabania-todo.html>
- Secretaría de Economía (SE), la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y el Banco Nacional de Comercio Exterior.
- Wikipedia contributors. OpenCV [Internet]. Wikipedia, The Free Encyclopedia; 2009 Oct 17, 21:24 UTC [cited 2009 Oct 19]. Available from: <http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=OpenCV&oldid=320475259>.
- <http://www.siap.gob.mx/> Servicio de información agropecuaria y pesquera www.economia.gob.mx

- Las ciencias aplicadas no existen, solo las aplicaciones de las ciencias.

Louis Pasteur

- La ciencia son hechos; de la misma manera que las casas están hechas de piedras, la ciencia está hecha de hechos; pero un montón de piedras no es una casa y una colección de hechos no es necesariamente ciencia.

Henri Poincaré

- Los grandes conocimientos engendran las grandes dudas.

Aristóteles

- El que todo lo juzga fácil encontrará la vida difícil.

Lao Tse

- Comprender las cosas que nos rodean es la mejor preparación para comprender las cosas que hay más allá.

Hypatia

- No tengo talentos especiales, pero sí soy profundamente curioso.

Albert Einstein