

UNIVERSIDAD DE OVIEDO

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOTECNOLOGÍA
ALIMENTARIA**

**“IMPACTO DEL NIVEL DE ÁCIDOS
GRASOS INSATURADOS EN LA
CALIDAD DE LAS HAMBURGUESAS DE
CORDERO ENVASADAS EN
ATMÓSFERAS MODIFICADAS”**

TRABAJO FIN DE MÁSTER

POR

LAURA PILAR GÓMEZ BARRIO

JULIO, 2018



Master en Biotecnología Alimentaria
Universidad de Oviedo
C/Juliana Clavería s/n. 33071 Oviedo. España
Tel. 985106226. Fax 985103434. <http://www.unioviado.es/MBTA>



PROFESOR TUTOR:

Dr. D. Carlos Álvarez García (Teagasc Food Research Centre, Dublin)

CERTIFICA:

Que D. Laura Gómez Barrio ha realizado bajo mi dirección el Trabajo Fin de Master al que corresponde la presente memoria en el contexto de los estudios del Master Universitario en Biotecnología Alimentaria, 12ª promoción curso 2017-2018.

Dublin, 27 de Junio de 2018

D. (Tutor)

VºBº

Manuel Rendueles de la Vega

Coordinador del Master en Biotecnología Alimentaria

Listado de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Leyenda..... | 16 |
| Tabla 2. Parámetros medidos en el TPA..... | 23 |
| Tabla 3. Distribución en lotes de las piezas de carne de cordero con bajo contenido en AGI..... | 28 |
| Tabla 4. Distribución en lotes de las piezas de carne de cordero con alto contenido en AGI..... | 29 |
| Tabla 5. Control de las temperaturas de las baldas de la cabina de venta minorista..... | 31 |
| Tabla 6. Esquema de los análisis realizados para cada día de toma de muestra..... | 32 |
| Tabla 7. Curva de calibrado del TBARS..... | 35 |
| Tabla 8. Valores medios de L^* y su desviación estándar para cada lote..... | 40 |
| Tabla 9. Valores medios de a^* y su desviación estándar para cada lote..... | 41 |
| Tabla 10. Valores medios de b^* y su desviación estándar para cada lote..... | 42 |
| Tabla 11. Valores medios de ΔE para cada lote, donde B1 es día 0, B2 es día 2, B3 es día 4 y B6 es día 14..... | 42 |
| Tabla 12. Valores medios de la concentración de MDA y sus desviaciones estándar.... | 43 |
| Tabla 13. Análisis ANOVA y Duncan de los resultados del análisis TBARS..... | 44 |
| Tabla 14. Porcentaje de AGS, AGMI y AGPI para los días 0 de toma de muestra, para cada muestra la primera B indica el lote y la segunda B el número de hamburguesa..... | 46 |
| Tabla 15. Porcentaje de AGS, AGMI y AGPI para los días 4 de toma de muestra, para cada muestra la primera B indica el lote y la segunda B el número de hamburguesa.... | 46 |
| Tabla 16. Porcentaje de AGS, AGMI y AGPI para los días 7 de toma de muestra, para cada muestra la primera B indica el lote y la segunda B el número de hamburguesa.... | 46 |

| | |
|---|----|
| Tablas 17 y 18. Contenido en proteína de los diferentes lotes a diferentes días de almacenamiento. Expresado como gramos de proteína/100 gramos de muestra. ND: no diferencias significativas..... | 47 |
| Tablas 19 y 20. Contenido de humedad de los diferentes lotes a diferentes días de almacenamiento. Expresado como g H ₂ O/100 gramos de muestra. ND: no diferencias significativas..... | 48 |
| Tablas 21 y 22. Contenido en grasa de los diferentes lotes a diferentes días de almacenamiento. Expresado como gramos de grasa/100 gramos de muestra. ND: no diferencias significativas..... | 49 |
| Tabla 23. Pérdida de agua por cocción. Expresado en % del peso inicial obtenido después de cocer. No diferencias significativas fueron observadas..... | 49 |
| Tabla 24. Valores medios de los distintos parámetros medidos en TPA y sus desviaciones estándar para el día 7 de toma de muestra..... | 50 |
| Tabla 25. Valores medios de los distintos parámetros medidos en TPA y sus desviaciones estándar para el día 14 de toma de muestra..... | 50 |

Tabla de figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1. Esquema de oxidación autolipídica. ROS: especies reactivas del oxígeno..... | 19 |
| Figura 2. Reacción de formación del complejo MDA-TBA. | 20 |
| Figuras 3 y 4. Hamburguesa moldeada tras el uso de la prensa manual y hamburguesa en la bandeja previamente a preservarla bajo atmósfera modificada_..... | 30 |
| Figura 5. Cabina de venta minorista con los diez lotes de hamburguesas de cordero y sondas de temperatura. | 31 |
| Figuras 6 y 7. Fotografía de una muestra en fresco del día 14 de ensayo y fotografía tomada con una lupa <i>Olympus sz61</i> de las levaduras halladas en la misma muestra | 39 |

Resumen

El perfil de ácidos grasos insaturados presente en la carne de los corderos se ve afectado por el proceso de digestión ruminal, además de otros factores intrínsecos como son el tipo de dieta, la edad, el sexo entre otros. La composición de ácidos grasos afecta a su vez a la calidad de la carne suponiendo cambios en el color, en la textura y en el estado de oxidación de los lípidos de tal forma que resulta de especial interés su estudio a lo largo de un periodo de tiempo de 14 días. A partir del décimo cuarto día, la calidad de la carne deja de ser óptima para el consumo humano. Tras los análisis realizados en hamburguesas de cordero, se ha encontrado que la carne adquiere un color marrón, un detrimento en las propiedades sensoriales, un aumento del estado de oxidación de los lípidos y un crecimiento microbiológico concluyendo así que, bajo condiciones de atmósfera modificada basada en un 80% O₂ y un 20% CO₂, no se observan diferencias en el producto final basadas en el diferente contenido de ácidos grasos saturados del producto.

Abstract

The unsaturated fatty acid profile shown in lamb's meat is affected by the ruminal digestion process, also by other intrinsic factors, e.g. diet, age, sex among others. The fatty acid composition also affects the quality of meat in terms of changes in color, texture and lipids oxidation therefore It is especially relevant its study throughout a 14-day period. From the 14th day, the meat quality ceases to be optimal for human consumption. As a result of the analysis done in lamb patties, a brown color in meat has been found among a detrimental effect in sensory properties, an increase in lipid oxidation and unusual microbiological growth. This means that, under MAP conditions based on 80% O₂ and 20% CO₂, no significant differences were observed in the final product, when initial fatty acid profile was different.

Índice

| | |
|--|----|
| 1. Introducción..... | 9 |
| 1.1. Objetivos del proyecto..... | 13 |
| 2. Conceptos teóricos..... | 14 |
| 2.1. El efecto de los ácidos grasos en la salud..... | 14 |
| 2.2. Factores intrínsecos que afectan al perfil de ácidos grasos en los corderos. | 16 |
| 2.3. Parámetros de calidad afectados durante el periodo de vida útil..... | 18 |
| 2.3.1. Oxidación lipídica..... | 18 |
| 2.3.2. Medida del estado de oxidación de los lípidos. | 20 |
| 2.3.3. Importancia del color en la calidad de la carne..... | 21 |
| 2.3.4. Medida del color. | 21 |
| 2.3.5. Importancia de la textura en la calidad de la carne. | 22 |
| 2.3.6. Medida de la textura. | 22 |
| 2.3.7. Cómo afecta el almacenamiento al estado de oxidación de los lípidos, al color y a la textura. Mecanismos para prevenir el deterioro de la carne. | 24 |
| 2.4. Influencia del procesado de las hamburguesas sobre su vida útil. | 26 |
| 3. Material y métodos..... | 27 |
| 3.1. Materia prima..... | 27 |
| 3.2. Elaboración de las hamburguesas..... | 30 |
| 3.3. Esquema de análisis realizados..... | 32 |
| 3.4. Análisis del color. | 32 |
| 3.5. Análisis del estado de oxidación de los lípidos por TBARS. | 33 |
| 3.6. Extracción, derivatización y análisis de ácidos grasos por Cromatografía de Gases.35 | |
| 3.7. Análisis de pérdida de agua por cocción. | 37 |
| 3.8. Análisis del perfil de textura. | 38 |
| 3.9. Análisis de composición. | 39 |
| 3.10. Análisis microbiológico. | 39 |

| | |
|--|----|
| 3.11. Análisis estadístico de los resultados. | 40 |
| 4. Resultados..... | 40 |
| 4.1. Color. | 40 |
| 4.2. TBARS..... | 43 |
| 4.3. Perfil y composición de ácidos grasos..... | 44 |
| 4.4. Composición. | 47 |
| 4.5. Pérdida de agua por cocción. | 49 |
| 4.6. Textura. | 50 |
| 5. Conclusiones..... | 52 |
| 6. Bibliografía..... | 53 |

1. Introducción.

Un consumo adecuado de carne roja ha sido relacionado con beneficios para la salud en numerosos estudios científicos (Cashman , Hayes; 2017), esto se basa en que la carne roja es una fuente de proteínas y nutrientes esenciales como el hierro, el zinc o la vitamina B₁₂ y también de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) omega-3 (según en qué carbono se posicione el primer doble enlace, en este caso en el tercero, empezando a contar por el extremo que no posee el grupo carboxilo) de cadena larga y de ácidos linoléico-conjugados (ALC) (ácido eicosapentaenoico o EPA, ácido docosahexanoico o DHA y ácido docosapentanoico). Integrar este tipo de nutrientes en la dieta supone una protección contra enfermedades cardiovasculares, desórdenes autoinmunes, diabetes, artritis y arritmia, además, el DHA es un nutriente esencial para la retina y el cerebro (Finley, Shahidi; 2001). Sin embargo, una de las últimas revisiones de literatura científica realizada por expertos de varios países, convocados bajo el Programa de Monografías del Centro Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), ha clasificado la carne roja como probable carcinógeno para los humanos¹. Uno de los mecanismos responsable de la carcinogénesis más apoyados en publicaciones científicas es la formación de compuestos mutagénicos como aminas heterocíclicas o hidrocarburos poliaromáticos cuando se cocina la carne a altas temperaturas hasta pasado su punto. A pesar de ello, se requiere un consumo de grandes cantidades y que la carne esté muy hecha para poder tener evidencia científica del incremento en el riesgo de padecer cáncer (McAfee, McSorley, Cuskelly, Moss, Wallace, 2009). Centrándonos en los beneficios que supone el contenido en AGPI de la carne roja anteriormente mencionados, múltiples publicaciones científicas estudian la relación entre su presencia en la carne de cordero y los factores que afectan a la calidad nutricional de este tipo de carne. Entre estos factores se encuentra el tipo de dieta con la que se alimenta a los corderos, el sexo, la edad, su genética, el procesado y los cambios producidos durante su vida útil.

Los corderos son rumiantes, por lo que la digestión microbiana ruminal afecta a la composición de los ácidos grasos, pero también la síntesis *de novo*, la desaturación in situ por ejemplo del ácido vaccénico en ácido ruménico y la transferencia entre los tejidos. La digestión microbiana ruminal consta de dos procesos: la lipólisis y la biohidrogenación. La lipólisis consiste en la liberación de los ácidos grasos procedentes, en primera instancia, de los lípidos contenidos en los alimentos, mientras que la

biohidrogenación es la transformación de enlaces dobles en enlaces sencillos de los ácidos grasos dando lugar a una elevada concentración de ácidos grasos saturados como el ácido esteárico (18:0). Como consecuencia de estos procesos también se obtienen el ácido vaccénico (18:1 trans-11) y los isómeros conjugados del ácido linoleico (CLA) como el ácido ruménico (18:2 cis-9, trans-11) que tiene propiedades anticarcinogénicas. El ácido linoleico (C18:1) y el ácido linolénico (C18:2) también están presentes en los productos derivados del cordero, pero no pueden ser sintetizados por el animal, por lo que son nutrientes esenciales en la dieta (Scerra, Caparra, Foti, Galofaro, Sinatra, Scerra; 2007).

La síntesis *de novo* consiste en la elongación de moléculas de acetil coenzima A mediante reacciones sucesivas de condensación decarboxilativa de moléculas de acetil-CoA (o butiril Co-A) con la de malonil-CoA. Así se obtiene, principalmente, el ácido palmítico que por acción de la mitocondria puede llegar a veintidós carbonos (Martínez, Pérez, Pérez, Gómez, Carrión; 2010).

Dada la importancia de los AGPI y de los omega-3 se ha comprobado que los corderos alimentados con pasto muestran una menor proporción de grasa en la canal y de mejor calidad, desde el punto de vista nutricional, que los corderos criados en establos debido al mayor ratio AGPI/AGS y menor ratio omega-6/omega-3 en la grasa intramuscular (Scerra, Caparra, Foti, Galofaro, Sinatra, Scerra; 2017).

En cuanto al sexo, en corderos sin destetar y por lo tanto sin actividad ruminal, el depósito de ácidos grasos saturados es mayor en hembras que en machos debido a la mayor precocidad de las hembras. Sin embargo, en corderos destetados no se encontraron diferencias significativas debido a la digestión microbiana ruminal (Horcada-Ibáñez, Beriain-Apesteguía, Lizaso-Tirapu, Insausti-Barrenetxea, Purroy-Unanua; 2009). También se ha encontrado que el contenido en AGPI es mayor en hembras, pero, en general, la calidad sensorial de la carne no se ve afectada por el sexo del animal (Florencio, Peña, Andrés; 2007).

La edad de sacrificio, comparando 45 días frente a 90 días no afectó dramáticamente el perfil de ácidos grasos, no así el contenido en grasa o en ácidos grasos. Estas diferencias se pueden deber al diferente desarrollo de los tejidos en animales jóvenes y las diferentes condiciones fisiológicas y capacidades digestivas de los animales. Concluyendo que la carne de los animales más jóvenes estaba caracterizada por un perfil

de ácidos grasos más compatible con una alimentación sana del consumidor (Karabacak, Aytekin, Boztepe; 2014).

Hasta ahora se ha destacado más el perfil y la composición de los ácidos grasos como algo que el consumidor demanda de la carne de cordero desde la perspectiva de la salud, pero esto no es lo único que el consumidor demanda, ya que el color que tiene esta carne es un parámetro crítico en la comercialización de este producto, además de la textura. El color en la carne depende de la mioglobina, que es una proteína soluble en agua que almacena oxígeno para el metabolismo aerobio del músculo. En su parte no proteica contiene un átomo de hierro cuyo estado de oxidación y a qué se encuentre ligado son factores que definirán el color de la carne. Una alta concentración de mioglobina da lugar a un color más intenso. Al cortar la carne, la mioglobina se oxida a oximioglobina que le da un color rojo brillante normalmente asociado a carne fresca. Tanto la mioglobina como la oximioglobina se pueden oxidar a metmioglobina que da un color amarillado a la carne y por lo tanto es percibido por los consumidores como el enranciamiento del producto (Boles, Ann, Pegg; 2010).

A la hora de evaluar la calidad organoléptica de la carne de cordero, una vez cocinada, los consumidores valoran primeramente el sabor, luego la ternura y por último la jugosidad. Se ha encontrado evidencia de que los corderos ligeros sin destetar tienen una carne menos tierna, pero de sabor más intenso que los corderos ligeros destetados (Juárez, Horcada, Alcalde, Valera, Polvillo, Molina, 2009). También se encuentran diferencias en cuanto al lugar de procedencia, por ejemplo, en países del mediterráneo la carne de cordero es percibida como de mayor calidad (más tierna y menos sabrosa) en corderos ligeros que en corderos pesados (Martínez-Cerezo, Sañudo, Panea, Medel, Delfa, Sierra, Beltrán, Cepero, Olleta; 2005).

Otros factores a tener en cuenta son: cómo va a ser almacenada y procesada esta carne de cordero. Normalmente, la carne de cordero se suele almacenar empaquetándola a cuatro grados centígrados en atmósferas modificadas (*Modified Atmosphere Packaging*, MAP), que comúnmente contienen oxígeno (O₂), dióxido de carbono (CO₂) y nitrógeno (N₂) o al vacío (*Vacuum Skin Packaging*, VSP). En MAP, conviene emplear entre un 70-80% de oxígeno para que así la carne tenga el color rojo deseado. Por otra parte, el O₂ puede provocar la oxidación de los lípidos y de la mioglobina dando lugar al enranciamiento y a la decoloración de la carne con el consiguiente rechazo por parte del consumidor. Por esta razón, la concentración del oxígeno es un parámetro crítico que

controlar. También se ha documentado el empleo de una MAP constituida por 40% de CO₂ con un 60% de N₂, resultando una carne sin olores indeseados y con un color óptimo (Vergara, Gallego; 2001). Otra forma de reducir el empleo de oxígeno consiste en empaquetar la carne en vacío, disponiendo sobre su superficie un film que reduce al mínimo la presencia de oxígeno. Empleando cualquiera de las formas de empaquetamiento previamente mencionadas, la vida útil no suele pasar de 21 días en carne refrigerada a cuatro grados centígrados (Bellés, Alonso, Roncalés, Beltrán, 2017). A medida que avanza el tiempo de almacenamiento es esperable ver una disminución del color rojo, un aumento del color amarronado debido a los procesos de oxidación. No hay mucha información acerca de cómo varía la textura de las hamburguesas de cordero, pero en hamburguesas de ternera se observó que el almacenaje en MAP disminuía su jugosidad y su masticabilidad (Jongberg, Sisse; 2011).

En la manufacturación de hamburguesas el proceso de picado de la carne influye de tal forma que se obtiene una mayor área superficial y como consecuencia tendrá una mayor exposición al O₂, siendo más probable que sufra procesos de oxidación, dando lugar a un producto de peor calidad y más perecedero (Bao, Puolanne, Ertbjerg, 2016).

En este estudio, animales con distinto perfil lipídico se emplearán para determinar si la composición de los ácidos grasos tiene un efecto sobre los cambios observados durante el periodo de vida útil de la carne. Para ello se ha escogido un producto modelo como son las hamburguesas.

1.1. Objetivos del proyecto.

Teniendo en cuenta la evolución a cerca del conocimiento sobre el papel de los ácidos grasos en la salud, su variación en base a distintos factores y la presencia de estos compuestos en la carne de cordero, se proponen los siguientes objetivos:

- Emplear un modelo cárnico, como puedan ser las hamburguesas, para analizar el impacto del tiempo de almacenamiento en parámetros clave en la calidad del producto.
- Caracterizar las muestras, según el perfil de ácidos grasos y su composición, haciendo énfasis en aquellos ácidos grasos relevantes para la salud humana como son: los ácidos grasos saturados (AGS), los ácidos grasos monoinsaturados (AGM), ALC, AGPI ω -3 y ω -6 (la letra griega ' ω ' indica la posición del doble enlace o insaturación contando desde el extremo opuesto a donde se encuentra el grupo carboxilo).
- Analizar el color, el estado de oxidación de los lípidos, la textura y la composición de las muestras (contenido en grasa y humedad, cenizas y proteínas).
- Determinar la influencia de una composición alta y baja de AGI (ácidos grasos insaturados) en los parámetros de calidad estudiados bajo las condiciones de empaquetamiento y envasado seleccionadas para este trabajo.

Todos los análisis planteados son análisis estandarizados que se emplean para valorar la calidad de las hamburguesas de cordero. Cada tipo de análisis será realizado en distintos periodos de tiempo de almacenaje, previamente seleccionados, para así evaluar la calidad del producto final en términos de color, composición, textura y enranciamiento.

2. Conceptos teóricos.

A continuación, en esta sección se explicará los principales ácidos grasos que se esperan observar en base a factores intrínsecos de los corderos y a otros extrínsecos. Además, del papel de los ácidos grasos en la salud. Finalmente, también se documentarán otros factores que influyen en la vida útil de las hamburguesas de carne de cordero y, por lo tanto, también en su calidad y en cómo mejorarla.

2.1. El efecto de los ácidos grasos en la salud.

Las grasas son necesarias en la dieta ya que aportan ácidos grasos esenciales además de intervenir en la absorción de vitaminas liposolubles. De acuerdo con la consulta de expertos de la FAO/WHO en 2008, las grasas en la dieta han de suponer entre un 20-35% de la energía, en una población sana y siempre que se mantenga el balance energético. Las grasas que resultan más beneficiosas para nuestra salud son las que provienen de los AGPI y de los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) ya que incrementan la fluidez de las membranas de las células reduciendo así el estrés oxidativo y la aparición de enfermedades cardiovasculares (Pytel, Olszewska-Banaszczyk, Koter-Michalak, Broncel; 2013) . Este tipo de ácidos grasos se encuentra mayoritariamente en pescado, vegetales, semillas y frutos secos y por lo tanto también de aceites de origen vegetal y de pescado². Sin embargo, la grasa de origen animal es rica en AGS , cuyo consumo se debe limitar a menos de un 10% del consumo calórico diario puesto que puede favorecer la aparición de enfermedades cardiovasculares, dislipemia y cáncer. Tras la consulta anteriormente mencionada, se plantearon algunas recomendaciones respecto a los distintos ácidos grasos y sus distintas implicaciones para la salud como las siguientes:

- Se consigue una disminución del colesterol de las LDL y de la relación colesterol total/colesterol HDL al sustituir los AGS por AGPI. Algo que también se observa si se sustituyen por ácidos grasos monoinsaturados (AGMI). Esto supone un riesgo inferior de enfermedad coronaria (CHD).
- Los ácidos linoleico y α -linolénico son esenciales puesto a que solo se pueden obtener a través de su consumo en alimentos que los contengan. Estos ácidos disminuyen el riesgo de accidentes cardiovasculares.

- El consumo de AGPI ω -3 y ω -6 previene de enfermedades degenerativas debidas al envejecimiento.
- Los ácidos grasos trans (los grupos funcionales se encuentran en lados opuestos) suponen un incremento de accidentes cardiovasculares, de CHD mortal y de muerte súbita, además de síndrome metabólico y diabetes, por lo que su consumo se ha de minimizar^A.

Con el objeto de clasificar las grasas ingeridas en la dieta, en base a su calidad nutritiva, se han desarrollado unos índices que relacionan la proporción entre los diferentes ácidos grasos presentes en un tipo específico de alimento índice aterogénico (IA) e índice trombogénico (IT). El IA se define como “la capacidad potencial de las grasas para producir agresiones en el endotelio de los vasos sanguíneos (formación de placas de ateroma), en personas especialmente susceptibles”. A su vez, el IT se define como “la capacidad potencial de un alimento para producir trombosis o embolia en individuos especialmente sensibles” (Ghaeni, Khadijeh, Zaheri; 2013). Por ejemplo, la carne de la pata del cordero tiene un IA de 0,53 y un IT de 1,13. El IA es un valor parecido a otras carnes procedentes de otros animales, pero el IT es bastante alto debido a la alta presencia de AGPI ω -6^B.

Las fórmulas para calcular el IT y el IA son las siguientes, en la Tabla 1 se especifican con detalle los ácidos grasos empleados para calcular estos índices:

$$IA = \frac{[(4 \times C14:0) + C16:0 + C18:0]}{[\sum MUFA + \sum PUFA\omega6 + \sum PUFA\omega3]}$$

Ecuación 1. Fórmula del índice aterogénico.

$$IT = \frac{(C14:0 + C16:0 + C18:0)}{(0,5 \times MUFA + 0,5 \times PUFA\omega6 + \frac{3 \times PUFA\omega3}{PUFA\omega6})}$$

Ecuación 2. Fórmula del índice trombogénico.

Tabla 1. Leyenda.

| Siglas | Significado |
|--------------|---|
| C14:0 | Ácido mirístico |
| C16:0 | Ácido palmítico |
| C18:0 | Ácido esteárico |
| MUFA | <i>Monounsaturated Fatty Acids</i> , ácidos grasos monoinsaturados. |
| PUFA | <i>Poliunsaturated Fatty Acids</i> , ácidos grasos poliinsaturados. |

Un tema de especial interés es la relación entre el consumo de los ácidos grasos y el desarrollo de distintos tipos de cáncer. No es posible asegurar que cierta cantidad o que un tipo determinado de grasa consumido en un alimento influya en la aparición de cáncer, ya que los alimentos están formados por varios nutrientes con funciones, a veces, antagónicas entre ellos. El comité de expertos de la FAO/WHO concluyó que solo existe una vinculación presumible entre la grasa total y el cáncer de endometrio, mientras que, para el cáncer colorrectal, de mama y de ovario no existe suficiente evidencia científica como para afirmar lo mismo⁵.

2.2. Factores intrínsecos que afectan al perfil de ácidos grasos en los corderos.

El perfil de ácidos grasos en los corderos es muy susceptible de variar dependiendo de diversos factores, como son: la edad, el sexo, la procedencia, la dieta, la crianza, etc. Muchas de estas variaciones son recogidas en publicaciones científicas, ya que esto supone un tema de interés puesto que se busca poder obtener carne con un perfil de ácidos grasos saludable, a la vez que ofrece una carne de buena calidad, mediante la optimización de y optimizar todo el proceso de crianza y posterior desarrollo del producto, incrementando así los beneficios obtenidos tanto por los ganaderos como por los procesadores y distribuidores.

La influencia de que el cordero haya sido destetado o no ha sido evaluada, se encontró que la proporción de AGS era mayor en aquellos que no habían sido destetados; mientras que los que habían sido destetados tenían una proporción mayor de AGMI y un mayor ratio ω -6/ ω -3 en el mismo tejido. También se observó un mayor contenido de ácido laurico (C12:0), ácido mirístico (C14:0), ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0)

y ácido oleico (C18:1). De acuerdo con esta misma publicación, se pudo concluir, además, que no se encontraron diferencias significativas en la composición de ácidos grasos alimentando a los corderos con cebada entera o concentrado comercial (Velasco, Cañeque, Lauzurica, Pérez, Huidobro, 2004).

Los mismos autores, en una publicación anterior, investigaron el efecto de posibles cambios en la dieta. Por ejemplo, si se alimentaban los corderos no destetados con aceite de girasol se producían aumentos en el contenido de ácido linoléico (C18:2) y disminuciones en los ácidos palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) y linolénico (C18:3). Por otro lado, aumentando la concentración de concentrado o de cereales aumentaba el nivel de insaturación debido a cambios en la digestión ruminal (Velasco, Cañeque, Lauzurica, Pérez, Huidobro, 1998). En otra publicación, se concluyó que los corderos lactantes alimentados con pastos tenían una mayor proporción de ácidos grasos insaturados en la grasa intramuscular, específicamente en ácido linoleico (C18:3), ácido eicosapentanoico (C20:5) y ácido docosapentanoico (C22:5) que los corderos alimentados en establos (Scerra; 2007). Además, también una mayor ratio AGPI/AGS, una menor ratio ω -6/ ω -3 y un mayor contenido de CLA. Mientras que los corderos lactantes alimentados en establo tenían una mayor proporción de ácido láurico (C12:0), ácido palmítico (C16:0) y ácido oleico (C18:1).

El efecto de la edad ha sido estudiado también. El contenido de ácidos grasos ramificados (AGR) aumenta con la edad, dando lugar a la siguiente distribución: las menores concentraciones se encuentran en corderos de menos de un año, concentraciones intermedias para corderos entre uno y dos años y las concentraciones más elevadas en corderos de más de dos años. Esto es un hecho esperable, también ya que el contenido en grasa del animal aumenta a medida que envejece. Adicionalmente, se observó que, el ácido 4-etilnonanoico, un tipo de AGR, tenía una mayor su concentración en hembras que en machos (Watkins, Rose, Salvatore, Allen, Tucman, Warner, Dunshea, Pethick; 2010).

El efecto de la procedencia de los animales también ha sido estudiado, en tanto en cuanto las dietas varían. Se compararon, comparando corderos criados en Reino Unido y en España, y se encontró que: los corderos procedentes de Reino Unido tenían mayores porcentajes, sobre el total de ácidos grasos, de C18:0 y ácido α -linoleico (C18:3 ω -3) y AGPI ω -3 de cadena larga, aunque, menores porcentajes de C18:2 (ω -6) y AGPI ω -6 de cadena larga que los corderos procedentes de España. Esta diferencia se debe al distinto tipo de dieta de ambos corderos. Además, la cantidad de estos ácidos grasos en el músculo

era mayor en los corderos de Reino Unido y no solo por su mayor contenido en grasa (Sañudo, Enser, Campo, Nute, María, Sierra, Wood; 2000).

Por último, de entre los músculos empleados para la carne, se ha visto que el *gluteobiceps* tiene un contenido alto en ácidos grasos y que el *longissimus* tiene el menor contenido en ácidos grasos y la menor concentración de AGPI, relacionado con su metabolismo por ser un músculo “más blanco” (Enser, Hallett, Hewett, Fursey, Wood J, Harrington; 1998).

2.3. Parámetros de calidad afectados durante el periodo de vida útil.

La conservación de la carne consta de dos etapas, una primera etapa de refrigeración posterior al sacrificio de los corderos, en la cual el descenso de la temperatura de la canal se ajusta al descenso del pH del músculo para garantizar un producto final de alta calidad organoléptica seguido por una segunda etapa, que consiste en conservar la carne a bajas temperaturas hasta su comercialización, en la cual se pueden emplear varias técnicas para preservar la calidad de la carne hasta que llega al consumidor final, tales como atmósferas modificadas, envasado al vacío o “skin pack”. Una vez comienza el almacenamiento, procesos tales como el crecimiento microbiano o la oxidación de los lípidos y de las proteínas pueden acortar la vida útil de la carne. Debido a estos procesos de oxidación, la carne empieza a experimentar cambios en su color, sabor, textura, olor y valor nutricional (Bellés, Alonso, Roncalés, Beltrán; 2017). A raíz de esto, surge la necesidad de emplear métodos que nos permitan asignar estos cambios cualitativos a datos cuantitativos, con los que poder extraer información para optimizar los mecanismos que ayuden a extender la vida útil de la carne.

2.3.1. Oxidación lipídica.

La oxidación lipídica es una de las causas del deterioro de los alimentos en general, produciendo un deterioro en la calidad, la pérdida de nutrientes y la formación de sustancias no deseables⁶. Los lípidos se pueden oxidar por vía enzimática o no enzimática, siendo la autooxidación o peroxidación lipídica el principal mecanismo en carne fresca.

Esta reacción tiene lugar a partir de una reacción de radicales libres en cadena, que como cualquier otra reacción radicalaria consta de tres pasos: iniciación, propagación y terminación. Para llevar a cabo la iniciación, existen varios posibles iniciadores como son las sustancias reactivas del oxígeno (ROS), la luz, el calor o metales de transición. Durante la iniciación, uno de estos iniciadores da lugar a la formación de un radical lipídico a partir de un lípido. Tras la iniciación, tiene lugar la propagación, en la cual el radical lipídico reacciona con oxígeno para dar un radical peroxilo que a su vez reacciona como iniciador con otra molécula de un lípido para dar lugar así a un hidroperóxido lipídico y a otro radical lipídico. Por último, se lleva a cabo la reacción de terminación cuando dos radicales se unen formando compuestos no reactivos. Esta última fase se lleva a cabo cuando hay suficientes especies radicales para favorecer su contacto.

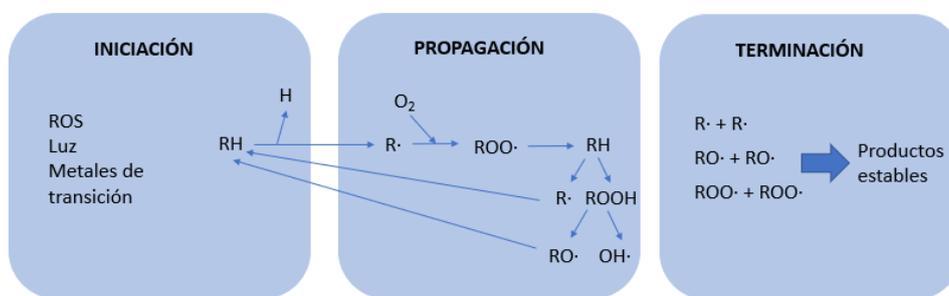


Figura 1. Esquema de oxidación autolipídica. ROS: especies reactivas del oxígeno.

La oxidación lipídica da lugar a los hidroperóxidos, compuestos inestables que dan lugar a compuestos de oxidación secundarios que comprometen la calidad de la carne. La carne puede contener trazas de iones metálicos, como el Hierro, que pueden inducir la autooxidación cuando hay hidroperóxidos presentes descomponiendo estos en radicales hidroxilo y alcoxi, seguido de la escisión de la cadena de los ácidos grasos a continuación del radical alcoxi. Así, se generan compuestos no volátiles y volátiles que son los responsables del deterioro en la carne^C.

Como ya se ha comentado previamente, se recomienda un mayor consumo de AGPI frente a AGS, aunque los AGPI son más susceptibles a ser oxidados durante el almacenamiento de la carne disminuyendo así el contenido nutricional de la carne. Esto es debido a que los AGPI tienen dobles enlaces que disponen de un electrón más fácilmente de “arrancar” debido a que poseen un enlace π a parte de un enlace σ , que es el único que poseen los enlaces sencillos, que el radical requiere para alcanzar su máxima estabilidad con un octete completo. Entre los compuestos que se generan como productos

de la oxidación de los lípidos se encuentran los aldehídos, entre ellos el más abundante es el malondialdehído (MDA) que se suele emplear como marcador de estrés oxidativo. El MDA se forma a partir de una reacción radicalaria entre ROS y AGPI⁸.

2.3.2. Medida del estado de oxidación de los lípidos.

Para medir el estado de oxidación de los lípidos, existe un método espectrofotométrico de uso generalizado denominado TBARS. Las siglas de TBARS son una abreviatura para *ThioBarbituric Acid Reactive Substances* o sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico, en español. Es un método espectrofotométrico que mide la +absorbancia a 532 nm producida por la formación del complejo de color rosa fluorescente entre el malondialdehído (MDA) y el ácido tiobarbitúrico (TBA). A continuación, se ilustra la reacción que se lleva a cabo para la formación de dicho complejo:

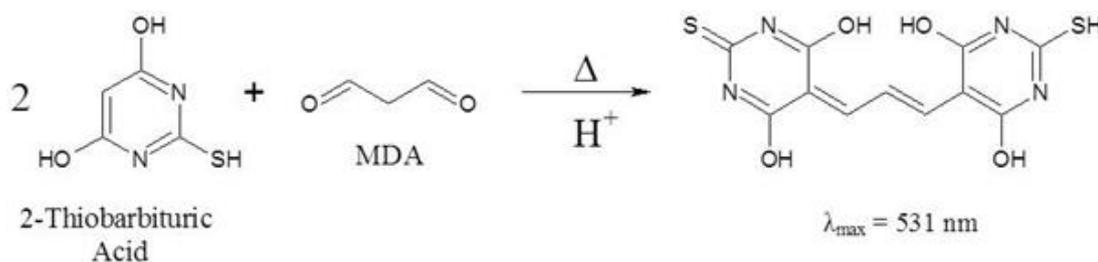


Figura 2. Reacción de formación del complejo MDA-TBA.

La cinética de la reacción depende de la disolución de TBA, de la temperatura y del pH. Existen varios procedimientos distintos documentados para llevar a cabo este método, como son: el calentamiento directo de la muestra, la destilación de la muestra, la extracción de los lípidos de la muestra mediante disolventes orgánicos o la extracción mediante el uso de un ácido acuoso. Pero para este estudio se ha seguido el procedimiento general, que consiste en la homogenización y la centrifugación en ácido tricloroacético (TCA) y posterior reacción con el TBA al punto de ebullición del agua, 100°C.

Pese a su utilización generalizada como método para medir el estado de oxidación de los lípidos, el TBA no es selectivo para el MDA puesto que también reacciona con otros aldehídos, carbohidratos, aminoácidos y ácidos nucleicos que interfieren con el TBA, dando lugar a un error por exceso. También puede ocurrir un error por defecto debido a que, bajo condiciones *in vivo*, se pueden formar bases de Schiff lineales o cíclicas

o dobles enlaces cruzados con lisina y arginina presentes en las proteínas. Debido a esto, el método tiene una baja sensibilidad para cuantificar y una baja especificidad molecular. Las condiciones fuertes de reacción también pueden suponer una fuente de error al poder formarse una peroxidación de los constituyentes de la muestra. Es importante tener en cuenta que el MDA no es un producto mayoritario puesto que solo proviene de la oxidación del ácido linolénico y no de otros lípidos (Barriuso, Astiasarán, Ansorena, 2013). Sin embargo, este método es ampliamente aceptado y empleado para medir oxidación de ácidos grasos debido a su simplicidad.

2.3.3. Importancia del color en la calidad de la carne.

El color de la carne tiene un papel determinante a la hora de percibir el consumidor la carne como una carne de calidad. De acuerdo con Adams y Huffman (1972) o a Pirko y Ayres (1957), el consumidor relaciona el color de la carne con la frescura de la misma. También es importante a escala industrial, puesto que la decoloración de ciertas partes de una pieza de carne hace que sea necesario recortarlas y por lo tanto supone una pérdida económica (Seideman, Cross, Smith, Durland; 1983). Por ello, es necesario el desarrollo de estrategias que permitan que la carne conserve su color durante el mayor periodo de tiempo posible.

2.3.4. Medida del color.

Para medir el color de las hamburguesas de cordero, se emplea un modelo cromático denominado *Hunterlab*. Este modelo define el color de una muestra en base a tres parámetros:

- La luminosidad (L), cuyo valor está comprendido entre L=0, para el color negro, y L=100, para el color blanco.
- a, representa el color rojo o verde de la muestra. Los colores rojos comprenden los valores positivos de a y los colores verdes, los valores negativos.
- b, representa el color amarillo o azul de la muestra. Los colores amarillos comprenden los valores positivos de b y los colores azules, los valores negativos.

De la combinación de estos tres parámetros se obtiene una representación tridimensional del color de la muestra. Este modelo sirve, por ejemplo, para discernir

entre dos colores en base a sus distintos valores de las coordenadas L^* , a^* y b^* , y calculando la desigualdad entre ellos⁹.

2.3.5. Importancia de la textura en la calidad de la carne.

Como previamente se indicó para el color, el consumidor tiene la última palabra a la hora de juzgar la calidad de la carne en base, en este caso, a la textura. La textura se ve afectada durante el almacenamiento, por un lado, reduciendo la firmeza por medio de la actividad de enzimas endógenas tales como calpaína o aminopeptidasas; y por otro aumentado debido a reacciones de oxidación, pérdida de humedad y entrecruzamiento de proteínas. El consumidor rechaza carnes que no tengan unas propiedades de textura determinadas, conduciendo al rechazo de producto final.

La ternura de la carne parece ser el parámetro más importante ya que carnes muy blandas o muy duras son rechazadas por el consumidor y se basa en las distintas proteínas presentes en el músculo, mayoritariamente proteínas fibrilares que le confieren su estructura. El tamaño de estas fibras determina en gran medida las propiedades organolépticas de la carne, por ejemplo, los animales más viejos tienden a tener fibras musculares de mayor tamaño dando lugar a una carne más basta en cuanto a textura.

Otros parámetros, como la actividad del músculo dado que zonas de la canal que han sido ejercitadas tienen más tejido conectivo y son menos tiernas que otros cortes de zonas menos ejercitadas. El tipo, la proporción y la distribución del tejido conectivo por lo tanto también influye. Además, parte del tejido conectivo se puede romper químicamente mediante un envejecimiento natural al colgar la pieza de carne de la res resultando una carne más tierna. Por último, procedimientos mecánicos como la molienda de la carne, marinajes o la adición de enzimas puede dar lugar a una carne más tierna en comparación a aquellas carnes no tratadas¹⁰.

2.3.6. Medida de la textura.

Para obtener una interpretación numérica de la palatabilidad de las hamburguesas, se emplea la rama de la “Texturometría”. Comprender lo que abarca la Texturometría, requiere entender previamente lo que significa la textura. La textura, es definida por el ICTAN (*Instituto de la Ciencia y Tecnología de los Alimentos y Nutrición*) como: “el conjunto de las propiedades reológicas y de estructura de un producto, perceptibles por

los mecanorreceptores, receptores táctiles y, en ciertos casos, por los visuales y los auditivos”. En este estudio, se emplea el ensayo del Análisis del Perfil de Textura (TPA) que consiste en un test de doble compresión, en el cual la muestra es comprimida por una sonda metálica primero hasta un determinado porcentaje de su espesor y finalmente, hasta el 100% de su espesor. De la realización de este ensayo se puede obtener la medida los parámetros presentados en la Tabla 2:

Tabla 2. Parámetros medidos en el TPA¹¹.

| Parámetro | Definición | Forma de medida |
|-----------------|---|---|
| Dureza | Fuerza requerida para conseguir una deformación determinada. | Fuerza máxima requerida para realizar la primera compresión (Newtons). |
| Fracturabilidad | Fuerza necesaria para fracturar la muestra | Fuerza del primer pico (Newtons). |
| Cohesividad | “Fuerza” de los enlaces internos que mantiene la estructura de una muestra. | Cociente entre el área del segundo pico de compresión y el área del primer pico de compresión (adimensional). |
| Elasticidad | Capacidad que tiene una muestra deformada para recuperar su forma o longitud inicial después de que la fuerza ha impactado en ella. | Cociente entre la altura del segundo pico de compresión y la altura del primer pico de compresión (adimensional). |
| Gomosidad | Fuerza necesaria para desintegrar una muestra de alimento semisólido a un estado tal que facilite su ingesta. | Producto de la dureza y la cohesividad (Newtons). |
| Masticabilidad | Fuerza necesaria para masticar un alimento sólido hasta un estado tal que permita su ingesta. | Producto de la dureza, la cohesividad y la elasticidad (Newtons). |
| Resiliencia | Fuerza de deformación (por unidad de volumen) que puede ser recuperada de un cuerpo deformado cuando cesa el esfuerzo que causa la deformación. | Cociente entre el área para alcanzar el máximo del primer pico y el área desde el máximo hasta el final del primer pico (adimensional). |

Este tipo de análisis tiene como ventaja que, mediante la aplicación del TPA, se puede obtener una gran cantidad de información, sin necesidad de destruir la muestra y por lo tanto poder emplearla para otro tipo de análisis.

2.3.7. Cómo afecta el almacenamiento al estado de oxidación de los lípidos, al color y a la textura. Mecanismos para prevenir el deterioro de la carne.

Una vez definidas las técnicas para medir los cambios en el estado de oxidación de los lípidos, el color y la textura, y como estos cambios pueden afectar las decisiones de comprar del consumidor, es necesario conocer que cambios son esperables para así poder proponer unas estrategias que permitan alargar la vida útil de la carne. Como ya se ha indicado previamente, tras el sacrificio tiene lugar la refrigeración, y la conservación y la maduración de la carne. Es especialmente importante emplear métodos específicos de empaquetamiento puesto que sino la vida útil durante la refrigeración se acortaría. De entre los posibles empaquetamientos comentados en la introducción de este estudio, el MAP, junto con el “skin pack”, son los que ofrecen un mejor resultado en la calidad de la carne. Sin embargo, este último método no ha sido considerado, ya que es un envasado al vacío, la oxidación se podría inhibir y no podría ser posible estudiar el impacto diferencial de la oxidación en las muestras analizadas para este trabajo. Para la conservación de la carne se suele emplear un MAP compuesto de un 20-30% de CO₂ y un 80-70% de O₂. Este rango de concentración de CO₂ resulta beneficioso pues por un lado puede reducir el desarrollo de organismos psicotróficos en un 50%, del mismo modo esta concentración de O₂ favorece la formación de la oximioglobina, la cual presenta un color rojo atractivo para el consumidor. Sin embargo, esta concentración de O₂ también puede dar lugar a:

- La oxidación de los lípidos, debido a la reacción de los AGI con el oxígeno y por mecanismos radicalarios, la formación de hidroperóxidos y posterior formación de productos secundarios de oxidación ya nombrados previamente. Los factores que afectan a esta oxidación son también la composición de los ácidos grasos (ya que a mayor grado de insaturación más sensible son a la

oxidación), la presión parcial del oxígeno, etc. (Sánchez, Torrescano, Camou, González, Hernández, 2008).

- Una disminución del color rojo (a) y un aumento del color amarronado (b) y de la luminosidad (L), debido a que la mioglobina y la oximioglobina pueden sufrir una oxidación y formar la metmioglobina, cuyo color es menos deseable².
- En cuanto a la textura, se ha demostrado que promueve la oxidación de las proteínas y la formación de enlaces intra e intermoleculares de la miosina, que resulta en una carne más dura y en una disminución de la jugosidad.

En general, tanto los cambios en el color como en la oxidación se observan mayoritariamente en los 7 primeros días de almacenamiento. Entre ellos una disminución de L* y de a*, así como un aumento de la oxidación para hamburguesas de cordero sin aditivos y un aumento de la dureza, de la gomosidad y de la masticabilidad (Andrés, Petróna, Adámez, López, Timóna; 2017).

Para prevenir el deterioro de la carne, se pueden llevar cabo diversas modificaciones en el proceso como:

- Modificar los gases empleados en el MAP, por ejemplo, se ha encontrado una mejoría en las propiedades sensoriales de la carne cuando se empleaba Argón en lugar de Nitrógeno.
- Conservar la carne a temperaturas inferiores a 4°C, entre -0,5 y -2,8°C, logrando así inhibir el crecimiento microbiano y por lo tanto extender la vida útil entre 1,4 y 4 veces más.
- Añadir aditivos a la carne, como pulpa de uva o de aceituna, lo cual se ha comprobado que alarga la vida útil y ralentiza la decoloración y la oxidación de los lípidos (Andrés, Petróna, Adámez, López, Timóna; 2017).
- Empaquetar la carne con films que contienen antioxidantes, como por ejemplo de extracto de orégano. Empleando concentraciones del 4% p/p del film de embalado se logró una inhibición de la oxidación y alargar así la vida útil de 8 a 13 días en cuanto al color de la carne (Camo, Beltrán, Roncalés; 2008).

Estos son solo algunos ejemplos de estrategias llevadas a cabo en publicaciones científicas, sin embargo, este campo se encuentra actualmente en evolución y, por ejemplo, todavía se desconoce si un empaquetamiento VSP, comentado previamente en la introducción, es efectivo en la conservación de la carne de cordero durante su comercialización. Otras estrategias, sin embargo, ya se pueden ver a nivel industrial como el empleo de Ar en MAP para conservar cortes de cordero durante su comercialización en España (Bellés, Alonso, Roncalés, Beltrán; 2017).

En este trabajo, puesto que el objetivo era ver el impacto de la proporción de ácidos grasos saturados en la calidad de hamburguesas de cordero, se empleó un empaquetamiento de MAP con un 80% de oxígeno, con el objeto de incrementar el enranciamiento de los ácidos grasos. De este modo, las posibles diferencias se verían incrementadas con una atmosfera rica en oxígeno.

2.4. Influencia del procesado de las hamburguesas sobre su vida útil.

Desde el momento en el que el animal es sacrificado, la carne es susceptible a sufrir una contaminación debida a microorganismos externos, ya que es un medio muy propicio para su desarrollo, y por ello la refrigeración es esencial. La carne puede sufrir modificaciones por acciones microbianas, físicas o químicas como, por ejemplo: debidos a bacterias, mohos, levaduras, la rancidez oxidativa o la aparición de colores anormales. En el caso de carnes procesadas, como las hamburguesas u otros productos fabricados con carne picada, el riesgo de contaminación externa aumenta. Los microorganismos que aparecen más habitualmente en este tipo de productos son bacterias de géneros como: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Moraxella* y *Aeromonas*. Como esta carne se conserva refrigerada, puede además haber una contaminación debida a microorganismos psicrófilos como consecuencia de agua contaminada a la que la carne pudo haber sido expuesta. Estos se desarrollan sobre todo en cámaras refrigeradas que no son adecuadamente limpiadas. Los microorganismos principales vuelven a ser las *Pseudomonas*¹².

Las hamburguesas están formadas por una mezcla de carne y grasa picada (junto con otros ingredientes que se puedan añadir tales como sales, conservantes o antioxidantes), lo que hace que, además de que el riesgo de contaminación microbiana

sea superior y que tenga una mayor superficie de contacto con la atmósfera. Esto supone una mayor facilidad para sufrir procesos de oxidación y, por lo tanto, cambios en la calidad de la carne como ya se ha comentado.

Debido al efecto del procesado, la vida útil de los productos cárnicos, es por lo general, más corta que la de la carne. Precisamente por esto, las diferentes técnicas de envasado cobran mucha más relevancia para tratar de prolongar la calidad de la carne procesada.

Para este estudio se empleó el empaquetado a vacío en atmósfera modificada que consistía en un 80% O₂ y un 20% CO₂, esperando ver en un periodo de 14 días como L* aumenta, a* disminuye y b* aumenta. También se espera ver un incremento en los valores de oxidación lipídica, así como el endurecimiento de la carne. Se espera además que estos cambios sean más acusados en los primeros días y que al final la tendencia sea hacia valores que presenten poca variación entre ellos.

3. Material y métodos.

3.1. Materia prima.

Para este estudio se dispuso de carne de distintos corderos con distinto contenido de AGPI en la grasa intramuscular, dividiéndolos así en dos grupos, con alto y bajo contenido en AGPI. Previamente a su manipulación, se dividieron las piezas de la canal pertenecientes a cada cordero en diez lotes, cinco lotes con alto contenido en AGPI y cinco lotes con bajo contenido en AGPI. Para la confección de estos lotes se tuvo en cuenta que cada lote tuviese una media de pesos de las piezas y del contenido en AGPI parecida comparado al resto de lotes dentro del grupo de alto o bajo contenido en AGPI. La siguiente tabla muestra el diseño de los lotes:

Tabla 3. Distribución en lotes de las piezas de carne de cordero con bajo contenido en AGI.

| Bajo contenido en AGI | | | | | |
|-----------------------|----------------|-------|-----------|--------------------|--------------------------|
| Lote | Identificación | % AGI | Total (g) | Total por lote (g) | % AGI esperados por lote |
| 1 | LAMQ-05-07 | 49,09 | 46 | 739 | 47,96 |
| | LAMQ-03-04 | 49,16 | 64 | | |
| | LAMQ-05-33 | 48,18 | 80 | | |
| | LAMQ-06-16 | 46,30 | 89 | | |
| | LAMQ-05-02 | 47,43 | 67 | | |
| | LAMQ-07-04 | 47,34 | 270 | | |
| | LAMQ-05-16 | 48,20 | 123 | | |
| 2 | LAMQ-03-21 | 49,29 | 80 | 742 | 47,69 |
| | LAMQ-05-18 | 48,12 | 77 | | |
| | LAMQ-05-32 | 48,00 | 83 | | |
| | LAMQ-04-14 | 43,88 | 128 | | |
| | LAMQ-07-09 | 48,67 | 132 | | |
| | LAMQ-04-07 | 48,20 | 242 | | |
| 3 | LAMQ-05-13 | 47,24 | 97 | 740 | 47,46 |
| | LAMQ-03-19 | 47,77 | 64 | | |
| | LAMQ-05-30 | 49,30 | 73 | | |
| | LAMQ-04-32 | 48,28 | 74 | | |
| | LAMQ-06-20 | 47,56 | 95 | | |
| | LAMQ-04-23 | 44,54 | 188 | | |
| | LAMQ-06-25 | 47,56 | 149 | | |
| 4 | LAMQ-05-22 | 47,48 | 58 | 735 | 47,45 |
| | LAMQ-04-37 | 44,69 | 110 | | |
| | LAMQ-05-03 | 48,89 | 91 | | |
| | LAMQ-05-14 | 47,74 | 86 | | |
| | LAMQ-07-10 | 48,91 | 164 | | |
| | LAMQ-05-01 | 46,62 | 124 | | |
| | LAMQ-05-28 | 47,86 | 102 | | |
| 5 | LAMQ-05-35 | 43,57 | 64 | 736 | 47,68 |
| | LAMQ-03-08 | 48,97 | 59 | | |
| | LAMQ-05-29 | 46,86 | 63 | | |
| | LAMQ-06-19 | 49,42 | 76 | | |
| | LAMQ-04-02 | 48,57 | 143 | | |
| | LAMQ-05-11 | 48,01 | 84 | | |
| | LAMQ-07-01 | 48,37 | 247 | | |

Tabla 4. Distribución en lotes de las piezas de carne de cordero con alto contenido en AGI.

| Alto contenido en AGI | | | | | |
|-----------------------|----------------|-------|-----------|--------------------|--------------------------|
| Lote | Identificación | % AGI | Total (g) | Total por lote (g) | % AGI esperados por lote |
| 6 | LAMQ-05-24 | 53,51 | 91 | 727 | 54,77 |
| | LAMQ-05-20 | 53,52 | 123 | | |
| | LAMQ-03-23 | 55,59 | 99 | | |
| | LAMQ-03-06 | 53,87 | 97 | | |
| | LAMQ-03-07 | 54,32 | 91 | | |
| | LAMQ-04-26 | 57,45 | 162 | | |
| | LAMQ-04-31 | 54,00 | 64 | | |
| 7 | LAMQ-03-05 | 52,84 | 42 | 739 | 54,85 |
| | LAMQ-06-03 | 52,82 | 68 | | |
| | LAMQ-05-31 | 52,85 | 115 | | |
| | LAMQ-03-14 | 58,02 | 179 | | |
| | LAMQ-04-01 | 52,86 | 95 | | |
| | LAMQ-04-05 | 54,62 | 122 | | |
| | LAMQ-04-36 | 55,29 | 118 | | |
| 8 | LAMQ-03-22 | 52,78 | 52 | 732 | 54,77 |
| | LAMQ-05-34 | 55,76 | 75 | | |
| | LAMQ-04-13 | 55,22 | 60 | | |
| | LAMQ-06-15 | 54,83 | 66 | | |
| | LAMQ-05-12 | 54,83 | 93 | | |
| | LAMQ-06-30 | 54,29 | 96 | | |
| | LAMQ-05-27 | 57,32 | 112 | | |
| | LAMQ-04-22 | 53,46 | 178 | | |
| 9 | LAMQ-03-09 | 52,80 | 84 | 785 | 54,58 |
| | LAMQ-04-04 | 54,70 | 82 | | |
| | LAMQ-03-24 | 57,07 | 117 | | |
| | LAMQ-03-15 | 53,13 | 48 | | |
| | LAMQ-07-05 | 55,57 | 260 | | |
| | LAMQ-05-19 | 54,36 | 82 | | |
| | LAMQ-03-13 | 52,87 | 48 | | |
| | LAMQ-05-37 | 56,14 | 64 | | |
| 10 | LAMQ-06-09 | 57,65 | 103 | 737 | 54,55 |
| | LAMQ-03-16 | 54,49 | 38 | | |
| | LAMQ-05-04 | 53,81 | 119 | | |
| | LAMQ-06-07 | 53,89 | 75 | | |
| | LAMQ-04-25 | 52,83 | 101 | | |
| | LAMQ-05-23 | 56,96 | 92 | | |
| | LAMQ-04-33 | 53,47 | 67 | | |
| | LAMQ-05-05 | 53,29 | 142 | | |

La carne fue recolectada en el matadero emplazado en Teagasc Ashtown (Dublín), envasada al vacío y congelada en cámaras a -19°C.

3.2. Elaboración de las hamburguesas.

Para llevar a cabo la elaboración de las hamburguesas, a cada trozo le fue retirada la grasa subcutánea ya que para este estudio fue diseñado teniendo en cuenta solo la grasa intramuscular. Tras esto, se procedió a cortar la carne en trozos más pequeños para poder así picarlos en la picadora posteriormente. La carne de cada lote se picó dos veces a través del mismo plato de corte, con un tamaño de poro de 4 mm, una vez realizado esto, se pesaron los 75g para cada hamburguesa y mediante una prensa manual se dio forma a las hamburguesas. Tanto antes de colocar la carne en la prensa como después de colocarla, se disponía de un film de plástico para cubrir la hamburguesa por ambos extremos. Finalmente, cada hamburguesa se dispuso en una bandeja de plástico y se selló con una atmósfera modificada de 80% oxígeno y 20% monóxido de carbono.



Figuras 3 y 4. Hamburguesa moldeada tras el uso de la prensa manual y hamburguesa en la bandeja previamente a preservarla bajo atmósfera modificada.

Cada lote constaba de seis hamburguesas de 75g y dos hamburguesas de 100g. Los distintos pesos se deben a que las hamburguesas de 100g eran más adecuadas para el

posterior análisis del perfil de textura debido a su mayor robustez y debido al limitado peso de las muestras, se optó por los 75 gramos para realizar el resto de los ensayos.

Una vez preparadas todas las hamburguesas, se dispusieron en una cabina de venta minorista configurada a una temperatura de 0°C y posteriormente, de -0,5°C debido a la falta de refrigeración del emplazamiento. Esta cabina se encuentra localizada en las instalaciones de Teagasc Ashtown (Dublin) como se ilustra en la siguiente fotografía.



Figura 5. Cabina de venta minorista con los diez lotes de hamburguesas de cordero y sondas de temperatura.

Se realizó un seguimiento de la temperatura de la cabina en cada estante obteniéndose los siguientes datos:

Tabla 5. Control de las temperaturas de las baldas de la cabina de venta minorista.

| | 19/06 | 20/06 | 25/06 | 26/06 | 27/06 |
|---------------------------|-------|-------|--------|--------|-------|
| Balda 1 (inferior) | 7,1°C | 8,9°C | 10,2°C | 11,9°C | 9,4°C |
| Balda 2 | 6,1°C | 8,5°C | 9,2°C | 10,4°C | 8,4°C |
| Balda 3 | 7,0°C | 7,2°C | 8,5°C | 10,8°C | 8,8°C |
| Balda 4 | 5,8°C | 6,4°C | 7,3°C | 9,9°C | 8,6°C |
| Balda 5 (superior) | 5,5°C | 5,4°C | 6,6°C | 8,4°C | 7,4°C |

3.3. Esquema de análisis realizados.

La toma de muestras se distribuyó por un periodo de 14 días, basado en datos aportados en la revisión bibliográfica, en donde se concluía que la mayoría de los cambios tenían lugar en los primeros 7 días, a partir de los cuales los parámetros de oxidación permanecían constantes. Como se mencionará en los resultados a partir del séptimo día de análisis se observaron síntomas evidentes de proliferación microbiana, por lo que se descartó el realizar un análisis de oxidación y ácidos grasos, ya que se verían afectados por factores bióticos. Del mismo modo la composición se limitó a los primeros días de análisis. Finalmente, textura y pérdida por cocción fueron evaluados al final de la vida del experimento, en donde se esperan encontrar las mayores diferencias, de haberlas.

Tabla 6. Esquema de los análisis realizados para cada día de toma de muestra.

| Análisis | Día 0 (18/06) | Día 2 (20/06) | Día 4 (22/06) | Día 7 (25/06) | Día 14 (2/07) |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Color | x | x | x | x | x |
| TBARS | x | | x | x | |
| Ácidos grasos por CG | x | | x | x | |
| Pérdida de agua por cocción | | | | x | x |
| Textura | | | | x | x |
| Composición | x | | x | x | |

3.4. Análisis del color.

Para el análisis del color se empleó un colorímetro cabo HunterLab UltraScan Pro (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA) con una ranura de visión de 25.54 mm y un iluminante estándar D65, 10°. La componente especular fue incluida (RSEX) y el de

la ranura de medida de 1.2 cm de diámetro. Primero, para calibrar el aparato se empleó una trampa de luz para definir el color en ausencia de luz ($L=0$) y luego un blanco estándar ($L=100$) cubierto con el mismo plástico que las hamburguesas para eliminar cualquier efecto sobre el color. Tras esto, el aparato estaba finalmente calibrado y se procedía a medir en cinco puntos distintos de una misma cara cada hamburguesa. Los valores para L^* (luminosidad), a^* (rojo) y b^* (amarillo) fueron medidos y promediados. Al colocar la hamburguesa para su medida se intentaba que la medida fuese sobre una zona sin betas de grasa, puesto que si no se obtendría el color de la grasa y no el color de la carne de la hamburguesa.

La diferencia total de color fue calculada empleando la siguiente ecuación (Salgado, Fernández, Drago, & Mauri, 2011):

$$\Delta E = \sqrt{(Ls - Lc)^2 + (as - ac)^2 + (bs - bc)^2}$$

Ecuación 3. Fórmula de la diferencia total de color.

Donde s es el valor obtenido para cada muestra y c el valor obtenido para el control.

De acuerdo con (Mokrzycki & Tatol, 2011), los valores de $\Delta E < 1$ no son percibidos por el ojo humano. Mientras que valores $1 < \Delta E < 2$ solo son percibidos por observadores expertos y valores $2 < \Delta E < 3,5$ pueden ser percibidos por observadores inexperimentados, valores $\Delta E > 3,5$ indican una diferencia distinguible en el color. Finalmente, valores $\Delta E > 5$ indican dos colores distintos.

3.5. Análisis del estado de oxidación de los lípidos por TBARS.

Una vez medido el color de todas las hamburguesas del lote que correspondiese en el día, se empaquetaban a vacío para prevenir la oxidación en lo máximo posible y se guardaban en la nevera. Tras esto, y para los posteriores análisis del estado de oxidación de los lípidos por TBARS y el análisis del perfil de ácidos grasos y de su composición, se picaba la carne con una picadora durante un minuto y se volvía a empaquetar a vacío separando las muestras para TBARS de las de ácidos grasos.

Para llevar a cabo el análisis por TBARS, se prepararon previamente las siguientes disoluciones:

- Disolución al 0,6% de ácido tiobarbitúrico (TBA) en agua. Esta disolución se preparaba para cada ensayo por TBARS.
- Disolución 0,1 N de ácido clorhídrico.
- Disolución madre, que consistía en 112,06 μL de TEP (1,1,3,3-Tetraetoxipropeno) con 10 mL de HCl 0,1N. Esta disolución se puso en un baño a 100°C durante diez minutos en un matraz tapado con un tapón y Parafilm. Tras esto, se enrasó con agua.
- Disolución stock, que consiste en 766 μL de disolución madre en un matraz de 250 mL.
- Disolución al 25% de ácido tricloroacético (TCA).

Una vez preparadas las disoluciones, se pesaron 2g de cada muestra a los que se añadieron 20 mL de agua MilliQ en tubos de 50 mL. Tras esto, se homogenizaban con el Ultraturrax Homogeniser a 13600 rpm durante 30 segundos por muestra. A continuación, se añadían 5 mL de la disolución al 25% de TCA y se agitaba cada tubo mediante el uso del Vortex. Una vez homogenizado, se filtró cada muestra en nuevos tubos de 50 mL empleando filtros de 101 mm de diámetro de poro. Una vez realizado esto, se configuraba el baño a 70°C y se transfirió una alícuota de 3,5 mL de filtrado a tubos de 15 mL añadiendo también 1,5 mL de disolución al 0,6% de TBA.

Para calibrar el aparato, se realizó la siguiente curva de calibrado:

Tabla 7. Curva de calibrado del TBARS.

| | Volumen de disolución stock (μL) | Volumen de agua MilliQ (μL) | Volumen de TCA (μL) | Volumen de TBA (μL) | Concentración de TEP (M) |
|---------------|---|--|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| Blanco | 0 | 2500 | 1000 | 1500 | 0,00 |
| C1 | 100 | 2400 | 1000 | 1500 | $2,86 \times 10^{-07}$ |
| C2 | 200 | 2300 | 1000 | 1500 | $5,73 \times 10^{-07}$ |
| C3 | 400 | 2100 | 1000 | 1500 | $1,15 \times 10^{-06}$ |
| C4 | 600 | 1900 | 1000 | 1500 | $1,72 \times 10^{-06}$ |
| C5 | 800 | 1700 | 1000 | 1500 | $2,29 \times 10^{-06}$ |
| C6 | 1000 | 1500 | 1000 | 1500 | $2,86 \times 10^{-06}$ |
| C7 | 1250 | 1250 | 1000 | 1500 | $3,58 \times 10^{-06}$ |
| C8 | 1500 | 1000 | 1000 | 1500 | $4,30 \times 10^{-06}$ |
| C9 | 2000 | 500 | 1000 | 1500 | $5,73 \times 10^{-06}$ |
| C10 | 2500 | 0 | 1000 | 1500 | $7,16 \times 10^{-06}$ |

Una vez el baño alcanzó la temperatura asignada, se metieron los tubos de 15 mL con las muestras y los del calibrado y se dejaron durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo, se paró la reacción metiendo los tubos en un recipiente con hielo y agua durante 5 minutos. Finalmente, se midió la absorbancia a 532 nm empleando un espectrofotómetro UV-Vis, primero de las disoluciones para realizar la curva de calibrado y luego de las muestras. El valor de regresión obtenido para las curvas de calibrado fue siempre superior a R^2 : 0.995.

3.6. Extracción, derivatización y análisis de ácidos grasos por Cromatografía de Gases.

Primero, se pesaron 5g de cada muestra en un tubo de 50 mL a los cuales se añadió 30 mL de una disolución de cloroformo:metanol 2:1. Tras esto, se homogenizaron las muestras mediante el uso del Ultraturrax Homogeniser a 7600 rpm durante 1 minuto para cada muestra. Posteriormente, se filtró con filtros de 101 mm de diámetro de poro en otros tubos de 50 mL y se añadió a cada tubo 6 mL de agua MilliQ. Se agitaron los tubos y se centrifugaron durante 5 minutos a 2500 rpm. Una vez se formaron las dos fases, una superior acuosa y una inferior de cloroformo:metanol, se desechó la fase acuosa, se añadió

¼ del volumen de disolución de una disolución 1:1 de metanol:agua para limpiar la fase inferior. Se agitaron los tubos cerrados, se abrieron para eliminar la sobrepresión y se centrifugaron, otra vez, a 2500 rpm 5 minutos. Tras esto, se volvió a retirar la fase acuosa superior y se dejaron secando con Nitrógeno a 38,5°C una noche.

Una vez llevada a cabo la extracción, se procedió a realizar la derivatización para lo cual se pesaron en tubos de 15 mL aproximadamente 100 mg de grasa obtenida tras la extracción. Se añadió a cada tubo 10 mL de hexano, se agitaron los tubos 30 segundos en el vortex, se añadió 100µL de KOH en metanol y se agitaron nuevamente durante 30 segundos en el vortex. Tras esto, se centrifugaron a 2500 rpm 5 minutos y el sobrenadante se trasvasó a un vial con un inserto para ser posteriormente inyectado en el Cromatógrafo de gases.

Las muestras fueron analizadas usando un Cromatógrafo Agilent 7890A acoplado a un detector Agilent 5975C espectrómetro de masas (Agilent Technologies, Cheshire, UK). Las muestras fueron inyectadas (0.5 µl) usando un sistema GC/MS dotado de un automuestreador Agilent 7963 (Agilent Technologies, Cheshire, UK) y la separación fue llevada a cabo por una columna 30-m x 0.25-mm id x 0.25-µm DB-Wax (part no. 122-7032).

La temperatura inicial para cada análisis era de 50°C, con una rampa de temperaturas hasta 160°C (20 °C/ min) para evaporar los compuestos de la muestra, seguida de otra rampa de aumento de temperatura hasta 220 °C (4 °C/ min) para evaporar aquellos compuestos con puntos de ebullición más altos de interés para el análisis y se mantuvo durante 5 minutos. Finalmente, se incrementó hasta 240 °C (4 °C/ min) para limpiar mediante la aplicación de una temperatura de pirólisis la columna. Se mantuvo durante 13 minutos. La temperatura del Puerto de inyección era de 250°C, mientras que se empleó gas Hidrógeno como gas de transporte (2 mL/min). Se empleó un inyector con separación de flujo (Split/splitless) 1:10.

Los ácidos grasos fueron identificados en base a la comparación de los tiempos de retención con los FAME del estándar Supelco 37 Component FAME mix y mediante SIM (Single Ion Monitoring). El SIM consiste en identificar los ácidos grasos en base a sus iones mayoritarios y preferiblemente únicos, empleando además la base de datos NIST. Por último, la abundancia de cada pico fue obtenida por integración mediante el software ChemStation.

Para el análisis por Cromatografía de gases, se inyectaba la siguiente secuencia:

- 1) Estándar: Supelco 37 Component FAME mix.
- 2) Blanco: hexano.
- 3) Muestras por duplicado.
- 4) Blanco.
- 5) Estándar.

Se diseñó esta secuencia para poder asegurar que la inyección se llevaba a cabo de una forma correcta al comprobar con el estándar y el blanco que no hay transferencia de compuestos de las muestras (*carryover*).

Para calcular el porcentaje total de AGS, AGMI y AGPI se emplearon las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ AGS} = \%C14:0 + \%C16:0 + \%C17:0 + \%C18:0$$

Ecuación 4. Porcentaje total de ácidos grasos saturados.

$$\% \text{ AGMI} = \%C16:1 + \%C18:1t + \%C18:1c$$

Ecuación 5. Porcentaje total de ácidos grasos monoinsaturados.

$$\% \text{ AGPI} = \%C18:2t + \%C18:3n3 + \% (C20:3\omega3 \text{ y } C20:3\omega6) + \%C20:5$$

Ecuación 6. Porcentaje total de ácidos grasos poliinsaturados.

3.7. [Análisis de pérdida de agua por cocción.](#)

Para realizar este análisis, se pesaban las hamburguesas secándolas previamente con papel para eliminar el agua más superficial. Una vez pesadas, se empaquetaron a vacío y se dispusieron dejando la misma distancia entre ellas en una barra metálica que atravesaba el plástico por la parte superior de tal forma que seguían en condiciones de vacío. Se introdujeron en un baño a 78°C durante 30 minutos para cocer las hamburguesas, alcanzando el centro de estas una temperatura aproximada de 72°C. Una vez cocidas, se abría el envase de plástico y se volvían a pesar volviendo a secar el agua más superficial.

Para este análisis y el posterior análisis del perfil de textura, se emplearon las hamburguesas de 100g exceptuando en algunos casos para el día 14 de toma de muestra

puesto que algunas hamburguesas habían sufrido crecimiento microbiológico y por lo tanto se emplearon hamburguesas de 75 g para algunos lotes.

Finalmente, para calcular el porcentaje de pérdida de agua por cocción se empleó la siguiente fórmula:

% Pérdida de agua por cocción

$$= ((\text{Peso crudo} - \text{Peso cocinado}) / \text{Peso crudo}) \times 100$$

Ecuación 7. Fórmula de pérdida de agua por cocción.

3.8. Análisis del perfil de textura.

El análisis del perfil de textura se realizó posteriormente al análisis de pérdida de agua por cocción. Para el TPA de las muestras del día 7 de toma de muestra se dejaron enfriar toda una noche debido a la falta de tiempo para realizar el análisis tras dos horas, lo cual es lo idóneo. No así con las muestras del día 14 de toma de muestra que se dejaron atemperar dos horas.

Para el TPA se empleó el método descrito por Herrero et al. (2007) con algunas variaciones (Herrero, Ordóñez, de Avila, Herranz, De la Hoz, & Cambero, 2007). Se empleó un texturómetro Instron Universal Testing Machine 5543, Instron Ltd., High Wycombe, UK. Las curvas de deformación fuerza/tiempo se obtuvieron empleando una sonda de 5kN configurada a una velocidad de 50 mm/ min. Los parámetros medidos fueron: adhesividad (N), dureza (N), cohesividad (adimensional), elasticidad (mm), masticabilidad (mm) y gomosidad (N).

Previamente a las medidas, se calibró el aparato asignando los límites de fuerza requeridos para la sonda de 500N (-450N a 450N), tras esto se indicó al aparato la máxima distancia a recorrer sin tocar la plataforma metálica (*Gauge length*), un espesor aproximado de 1 mm. Se integraba la sonda y se reseteaba a 0N. Para el análisis de las muestras se diseñó un ciclo de doble compresión inicial del 30% del espesor de la muestra y finalmente un 70%. Para cada hamburguesa, se realizó un triplicado a temperatura ambiente con muestras de 2 cm de diámetro extraídas de la hamburguesa mediante un molde cilindro metálico.

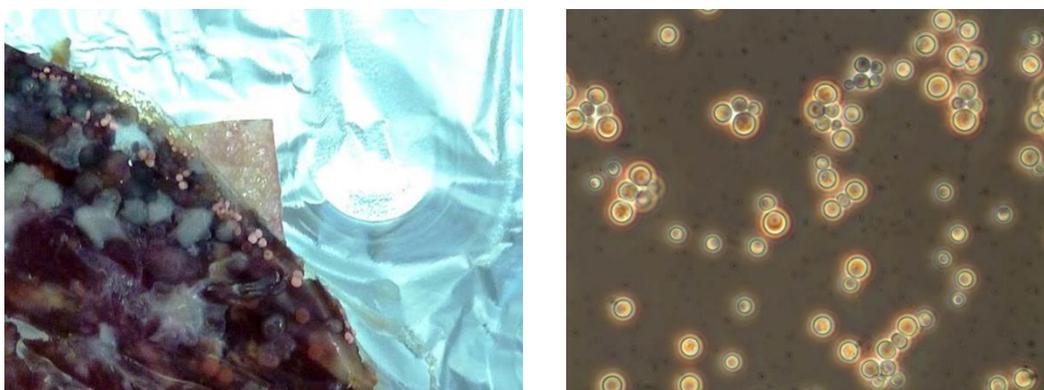
3.9. Análisis de composición.

El análisis de composición se llevó a cabo en hamburguesas de cordero crudas. El contenido en proteína fue determinado basado en la medida de nitrógeno generado por la combustión de las muestras usando un analizador de proteínas LECO FP628 (LECO Corp., MI, USA) basado en el método Dumas de acuerdo con el método AOAC (1996). Un factor de 6,25 fue empleado para realizar la conversión en tanto por ciento de Nitrógeno en proteína cruda. La grasa y el contenido de humedad fueron medidos usando un horno microondas Smart System 5 (Smart Trac 5 Model 907875, CEM Corporation, NC, USA) y un analizador de grasa NMR Smart Trac rapid (CEM Corporation USA) empleando los métodos oficiales descritos por AOAC(1995) para humedad y grasa (1995a).

3.10. Análisis microbiológico.

El día 14 de toma de muestra se observó un crecimiento microbiológico anómalo en la superficie de las hamburguesas que se encontraban todavía empaquetadas bajo atmósfera modificada. Para identificar de que se trataba un análisis microbiológico fue realizado en el área de microbiología de Teagasc mediante identificación visual.

La carne es un medio idóneo para el crecimiento de microorganismos puesto que tiene un pH entre 5,8 y 6,8, un alto contenido en agua ($a_w = 0,99$) y reserva de compuestos nitrogenados, carbohidratos y factores de crecimiento esenciales, como vitaminas y minerales. En este caso, la carne picada de cordero *Candida* spp. supone el 73% de la flora de levaduras presente, 21% *Cryptococcus* spp. y un 6% *Rhodotorula* spp (Dillon, Board; 1991).



Figuras 6 y 7. Fotografía de una muestra en fresco del día 14 de ensayo, izquierda. Fotografía tomada con una lupa *Olympus sz61* de las levaduras halladas en la misma muestra (derecha).

3.11. Análisis estadístico de los resultados.

Se ha hecho un análisis de la varianza (ANOVA), con el programa Minitab 15, de los resultados obtenidos de la determinación de la proteína, la grasa, la humedad, el TBARS y la pérdida de agua por cocción. El nivel de significación empleado es $p < 0,05$. Una vez determinada la diferencia de las muestras, un análisis Duncan posterior fue realizado para establecer las diferencias entre los diferentes grupos analizados.

4. Resultados.

4.1. Color.

El primer análisis realizado en los diferentes lotes de hamburguesas a lo largo del periodo de muestreo fue la medida del color.

Tras el análisis de los datos representados en la tabla 8, se deduce que la luminosidad para los cinco primeros lotes (bajo contenido en AGPI) tiende a disminuir desde el día 0 hasta el día 4, pero a partir del día 7 hasta el día 14 vuelve a aumentar alcanzando los valores máximos para este último día. Esta tendencia no está tan clara para los últimos 5 lotes (alto contenido en AGPI), ya que los valores tienden tanto a aumentar como a disminuir. No obstante, los valores del día 14 son también los máximos valores alcanzados. Una tendencia similar, aunque con valores más constantes, fue observada hamburguesas de cordero bajo una atmósfera modificada de 70% O₂ y 30% CO₂. Además, también se señala que el cambio en L* se apreció a partir del día 13 (Cózar, Rubio, Vergara; 2018).

Tabla 8. Valores medios de L* y su desviación estándar para cada lote.

| LOTE | Día 0 | | Día 2 | | Día 4 | | Día 7 | | Día 14 | |
|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|--------|------|
| | L* | SD | L* | SD | L* | SD | L* | SD | L* | SD |
| 1 | 47,93 | 2,30 | 46,58 | 2,54 | 46,24 | 1,66 | 48,64 | 1,00 | 51,76 | 5,01 |
| 2 | 47,67 | 0,87 | 46,30 | 1,55 | 45,67 | 1,11 | 51,33 | 2,81 | 53,71 | 2,48 |
| 3 | 47,60 | 3,35 | 45,98 | 1,26 | 44,06 | 2,41 | 50,43 | 1,45 | 48,29 | 2,77 |
| 4 | 43,64 | 1,27 | 45,79 | 1,55 | 43,53 | 1,21 | 45,91 | 1,07 | 47,35 | 2,30 |
| 5 | 44,98 | 0,62 | 46,05 | 1,46 | 44,11 | 1,06 | 47,16 | 1,98 | 48,68 | 0,75 |
| 6 | 49,05 | 2,41 | 51,72 | 3,66 | 50,03 | 4,83 | 47,79 | 1,60 | 53,73 | 3,72 |
| 7 | 50,78 | 2,40 | 52,09 | 2,21 | 53,01 | 1,80 | 51,19 | 2,04 | 53,94 | 1,71 |
| 8 | 46,68 | 3,46 | 46,48 | 4,26 | 47,29 | 4,20 | 44,12 | 1,44 | 48,04 | 2,06 |
| 9 | 47,24 | 1,87 | 47,71 | 3,59 | 47,20 | 1,27 | 45,28 | 3,53 | 50,29 | 1,75 |
| 10 | 46,57 | 1,90 | 44,93 | 1,64 | 45,27 | 2,49 | 47,67 | 1,83 | 49,16 | 2,94 |

Analizando a continuación la tabla 9, se puede ver que el valor de a^* disminuye notablemente en todos los lotes a medida que se alcanza el día 14, exceptuando el lote 2 el día 7 donde se puede comprobar que el valor es superior a los de los días 2 y 4. La disminución más acusada se produce desde el día 0 al día 2, donde a^* varía hasta en casi 3 unidades para el lote 2 o en casi 4 unidades para el lote 4 y el lote 5. No hay una diferencia notable en la disminución de a^* de los 5 primeros lotes con respecto a las de los 5 últimos lotes. La tendencia y los valores mínimos de a^* concuerdan con lo descrito en otra publicación científica para hamburguesas de cordero control bajo la misma atmósfera modificada (Kerry, O'Sullivan, Buckley, Lynch, Morrissey; 2000)

Tabla 9. Valores medios de a^* y su desviación estándar para cada lote.

| LOTE | Día 0 | | Día 2 | | Día 4 | | Día 7 | | Día 14 | |
|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|--------|------|
| | a^* | SD | a^* | SD | a^* | SD | a^* | SD | a^* | SD |
| 1 | 11,97 | 0,80 | 8,13 | 0,34 | 5,60 | 0,88 | 5,10 | 0,45 | 2,72 | 0,87 |
| 2 | 13,93 | 1,25 | 10,96 | 0,76 | 9,96 | 0,25 | 4,91 | 1,32 | 4,89 | 0,85 |
| 3 | 11,84 | 2,31 | 11,75 | 0,98 | 10,24 | 1,09 | 4,06 | 0,30 | 6,08 | 0,65 |
| 4 | 12,49 | 1,27 | 8,30 | 0,89 | 9,56 | 1,15 | 6,64 | 0,47 | 6,36 | 0,46 |
| 5 | 12,75 | 0,78 | 8,96 | 0,52 | 9,15 | 0,29 | 6,31 | 0,74 | 5,14 | 0,09 |
| 6 | 9,88 | 1,38 | 7,96 | 0,45 | 6,33 | 0,79 | 6,28 | 0,92 | 4,49 | 0,35 |
| 7 | 13,45 | 0,80 | 11,49 | 1,45 | 8,70 | 1,55 | 7,79 | 0,78 | 4,66 | 0,48 |
| 8 | 11,21 | 1,32 | 9,51 | 1,53 | 8,61 | 1,20 | 5,58 | 1,13 | 3,72 | 0,81 |
| 9 | 12,03 | 1,38 | 10,70 | 1,15 | 7,83 | 0,86 | 6,33 | 0,78 | 5,26 | 0,26 |
| 10 | 10,27 | 1,34 | 9,28 | 1,68 | 9,36 | 0,38 | 5,98 | 0,77 | 4,40 | 0,80 |

Con respecto a la tabla 10, el valor de b^* no sigue una tendencia clara, para los 5 primeros lotes disminuye desde el día 0 al día 2 y a partir del día 4 hasta el día 14 aumenta alcanzando los valores máximos este último día excepto para el lote 2, cuyo máximo valor se alcanza el día 7. Sin embargo, entre los 5 últimos lotes se encuentran dos lotes, el 6 y el 9, que aumentan desde el día 0 hasta el día 14. Los lotes 7, 8 y 10 disminuyen desde el día 0 hasta el día 2 y aumentan hasta el día 14, exceptuando el lote 7 que disminuye del día 2 al día 4. Para b^* sería esperable un aumento en su valor el día 14 con respecto al día 0, con poca variación en los días intermedios (Cózar, Rubio, Vergara; 2018).

Tabla 10. Valores medios de b* y su desviación estándar para cada lote.

| LOTE | Día 0 | | Día 2 | | Día 4 | | Día 7 | | Día 14 | |
|------|-------|------|-------|------|-------|------|-------|------|--------|------|
| | b* | SD | b* | SD | b* | SD | b* | SD | b* | SD |
| 1 | 12,89 | 1,62 | 10,49 | 2,06 | 10,02 | 2,31 | 11,11 | 1,16 | 14,46 | 1,51 |
| 2 | 15,08 | 0,56 | 14,86 | 0,71 | 14,87 | 0,71 | 13,06 | 2,63 | 16,24 | 2,28 |
| 3 | 12,02 | 1,60 | 13,95 | 0,68 | 13,13 | 1,68 | 10,69 | 0,78 | 15,35 | 1,34 |
| 4 | 11,99 | 1,40 | 10,92 | 0,92 | 13,61 | 1,55 | 14,20 | 0,44 | 15,22 | 0,75 |
| 5 | 13,75 | 0,41 | 13,50 | 1,36 | 14,51 | 0,75 | 14,86 | 0,54 | 15,45 | 0,83 |
| 6 | 11,00 | 0,88 | 14,74 | 1,64 | 12,12 | 1,40 | 13,92 | 0,88 | 16,70 | 1,58 |
| 7 | 16,25 | 0,86 | 15,94 | 1,31 | 14,10 | 1,48 | 16,54 | 0,64 | 16,46 | 0,88 |
| 8 | 13,80 | 1,20 | 12,95 | 1,16 | 13,53 | 1,68 | 12,49 | 2,50 | 13,65 | 2,17 |
| 9 | 13,48 | 2,63 | 14,21 | 2,08 | 11,81 | 1,01 | 12,69 | 1,20 | 16,09 | 1,17 |
| 10 | 12,59 | 0,89 | 11,72 | 1,18 | 13,19 | 1,18 | 14,04 | 2,41 | 13,13 | 1,07 |

Para la diferencia total en el color (ΔE), de acuerdo con la tabla 11, y teniendo en cuenta lo mencionado previamente en el punto 3.4. *Análisis de color*, se puede comprobar que todos los valores son superiores a 1 y, por lo tanto, son diferencias totales en el color perceptibles por el ojo humano. Tanto para el lote 4 como para el lote 5, existen valores inferiores a 2 solo perceptibles por observadores expertos. Entre 2 y 3,5, se encuentran dos valores para el lote 3 y el lote 10 que pueden ser percibidos por observadores inexperimentados. Valores entre 3,5 y 5, se encuentran para los lotes 2, 9 y 10, indicando una diferencia distinguible en el color. Finalmente, la mayoría de los datos son valores superiores a 5 concluyendo así que la mayoría de las diferencias totales en el color con respecto al día 0 indican colores distintos. Esto conduce a pensar que el consumidor podría percibir claramente el cambio de color, con lo que productos con un color no deseable serían rechazados, con el consiguiente impacto económico para el productor/distribuidor.

Tabla 11. Valores medios de ΔE para cada lote, donde B1 es día 0, B2 es día 2, B3 es día 4 y B6 es día 14.

| LOTE | $\Delta E(B1-B2)$ | SD | $\Delta E(B1-B3)$ | SD | $\Delta E(B1-B4)$ | SD | $\Delta E(B1-B6)$ | SD |
|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|
| 1 | 5,42 | 2,09 | 7,91 | 2,36 | 7,81 | 1,18 | 11,00 | 3,08 |
| 2 | 3,86 | 1,12 | 4,81 | 0,87 | 10,38 | 2,27 | 11,29 | 1,37 |
| 3 | 4,40 | 1,24 | 6,04 | 3,10 | 9,13 | 2,34 | 7,05 | 1,36 |
| 4 | 5,29 | 1,88 | 4,51 | 1,42 | 7,07 | 0,68 | 8,26 | 1,28 |
| 5 | 4,23 | 1,27 | 3,92 | 0,67 | 7,11 | 1,31 | 8,70 | 0,96 |
| 6 | 6,70 | 2,69 | 5,86 | 1,46 | 5,84 | 1,61 | 9,87 | 3,28 |
| 7 | 3,64 | 3,20 | 6,20 | 2,70 | 6,84 | 1,08 | 9,61 | 1,20 |
| 8 | 6,25 | 4,21 | 4,16 | 1,83 | 7,51 | 1,85 | 8,86 | 1,44 |
| 9 | 4,19 | 1,64 | 5,99 | 2,08 | 7,36 | 1,65 | 8,77 | 2,47 |
| 10 | 3,02 | 1,47 | 2,53 | 0,93 | 5,50 | 1,31 | 6,96 | 1,93 |

4.2. TBARS.

En la tabla 12, se puede comprobar que para todos los lotes se observa un aumento en las concentraciones de MDA desde el día 0 hasta el día 7, siendo un cambio más acusado desde el día 4 al día 7 que del día 0 al día 4. Los 5 primeros lotes presentan unos valores para las concentraciones de MDA mayores que los 5 últimos lotes, lo cual no era lo que se esperaba inicialmente ya que se esperaría una mayor oxidación en aquellas muestras con alto contenido en AGPI, es decir, las de los 5 últimos lotes. El umbral límite para la aceptación de la oxidación de carne de ternera se encuentra en 2 mg MDA/kg muestra. Este alto grado de oxidación puede ser debido a que las muestras empleadas habían sufrido un periodo muy prolongado de almacenamiento, desde que fueron tomadas hasta que se procedió a realizar este experimento. Esta elevada oxidación inicial pudo haber enmascarado cualquier efecto de oxidación que pudiera ser diferente entre ambos tipos de carne empleadas.

Tabla 12. Valores medios de la concentración de MDA y sus desviaciones estándar.

| LOTE | Día 0 | | Día 4 | | Día 7 | |
|------|--------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|-------|
| | [MDA] (MDA mg/g muestra) | SD | [MDA] (MDA mg/g muestra) | SD | [MDA] (MDA mg/g muestra) | SD |
| 1 | 14,94 | 0,23 | 24,58 | 0,60 | 67,54 | 2,74 |
| 2 | 23,11 | 7,24 | 10,92 | 0,70 | 79,89 | 0,60 |
| 3 | 12,53 | 0,23 | 11,55 | 1,48 | 44,98 | 2,03 |
| 4 | 15,71 | 0,23 | 17,50 | 1,81 | 84,84 | 5,59 |
| 5 | 31,40 | 0,23 | 22,91 | 1,48 | 88,47 | 17,73 |
| 6 | 14,39 | 0,37 | 17,95 | 1,59 | 86,31 | 3,15 |
| 7 | 15,53 | 0,23 | 12,52 | 1,81 | 82,43 | 2,13 |
| 8 | 15,27 | 0,37 | 15,42 | 2,24 | 82,58 | 3,86 |
| 9 | 30,73 | 1,80 | 15,20 | 2,24 | 53,38 | 1,82 |
| 10 | 15,25 | 0,66 | 14,57 | 2,35 | 66,56 | 1,21 |

En cuanto al análisis estadístico realizado presente en la tabla 12, si se observa primeramente la variación de cada lote con respecto a los días, para los lotes 3, 4, 7 y 8 los días 0 y 4 no son distintos significativamente ($p > 0,05$), pero sí respecto al día 7. El resto de los lotes presentan valores distintos significativamente ($p < 0,05$) para cada día.

Comparando ahora lotes entre sí para un mismo día, se concluye que para el día 0 los lotes 1, 4, 6, 7, 8 y 10 y los lotes 5 y 9 no son distintos significativamente ($p > 0,05$) entre sí, pero sí con respecto al lote 2 y al lote 3 ($p < 0,05$). Los lotes 2 y 3 son también distintos significativamente entre sí ($p < 0,05$). Para el día 4, los lotes 2, 3 y 7, 4 y 6 y 8, 9 y 10 no son distintos significativamente entre sí ($p > 0,05$) pero sí con respecto al lote 1, al 4 y entre estos grupos ($p < 0,05$). Los lotes 1 y 4 son también distintos significativamente

entre sí ($p < 0,05$). Finalmente, para el día 7 los lotes 1 y 10 y los lotes 2, 4, 5, 6,7 y 8 no son distintos significativamente entre sí ($p > 0,05$) pero sí entre estos grupos y en comparación al lote 3 y al 9 ($p < 0,05$). Los lotes 3 y 9 son también distintos significativamente entre sí ($p < 0,05$).

Los datos representados en la tabla 13 en unidades de absorbancia se corresponden con los datos representados en la tabla 12 en concentraciones de MDA. Las tres letras (a,b y c) hacen referencia a diferencias significativas o no en un mismo lote para distintos días, leyéndose de izquierda a derecha. Si las letras son iguales quiere decir que no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) y si las letras son distintas, sí hay diferencias significativas ($p < 0,05$). Las letras situadas en la zona inferior de la tabla hacen referencia a lo mismo, pero para distintos lotes en un mismo día.

Tabla 13. Análisis ANOVA y Duncan de los resultados del análisis TBARS.

| | Día 0 | Día 4 | Día 7 | |
|------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------|
| B1 | 0,104±0,001 | 0,237±0,002 | 0,658±0,023 | a,b,c |
| B2 | 0,161±0,05 | 0,1035±0,003 | 0,781±0,002 | a,b,c |
| B3 | 0,087±0,001 | 0,094±0,001 | 0,438±0,016 | a,a,b |
| B4 | 0,109±0,001 | 0,149±0,004 | 0,829±0,051 | a,a,b |
| B5 | 0,219±0,001 | 0,199±0,001 | 0,864±0,17 | a,b,c |
| B6 | 0,100±0,002 | 0,153±0,002 | 0,842±0,027 | a,b,c |
| B7 | 0,108±0,001 | 0,103±0,004 | 0,805±0,017 | a,a,b |
| B8 | 0,106±0,002 | 0,130±0,008 | 0,807±0,034 | a,a,b |
| B9 | 0,214±0,012 | 0,128±0,008 | 0,520±0,014 | a,b,c |
| B10 | 0,106±0,004 | 0,122±0,009 | 0,650±0,008 | a,b,c |
| | c,b,d,c,a,c,c,c,a,c | a,e,e,c,b,c,e,d,d,d | b,a,d,a,a,a,a,c,b | |

4.3. Perfil y composición de ácidos grasos.

De los resultados obtenidos tras el análisis de los cromatogramas obtenidos por cromatografía de gases, se puede apreciar una notoria disminución en el porcentaje total de AGS comparando el día 0 con el día 4, que se estabiliza entre el día 4 y el día 7. En cuanto al porcentaje total de AGMI, se observan valores parecidos entre los tres días con alguna excepción como es el lote B4B1-2, B4B3-2 y B4B4-2 que no se observa para la primera réplica de estas mismas muestras por lo que puede ser debido a diferencias en el análisis. También se observa un cambio acusado entre B8B1 y B8B3 entre los días 0 y 4. Finalmente, en cuanto al porcentaje total de AGPI se ve una tendencia contraria a la del

porcentaje total de AGS, un aumento notable del día 0 al día 4. En carne fresca de cordero es esperable que el porcentaje total de AGS y de AGMI sea superior al del AGPI (Nudda, McGuire, Battacone, Manca, Boe, Pulina; 2011) lo cual concuerda con lo obtenido. A medida que aumentaba el tiempo de almacenamiento se hubiese esperado un incremento en el porcentaje de AGS y que el porcentaje total de AGPI y AGMI permaneciesen constantes, debido a procesos de oxidación, al que son más susceptibles (Gutiérrez, Tejada, Parra, Andrés; 2013), sin embargo, sólo se ha encontrado que el porcentaje total de AGMI permanece invariable. Aún así, lo esperable es que el porcentaje total de AGPI y AGMI disminuya porque van sufriendo un proceso de oxidación.

Estos resultados son totalmente inesperados, y este cambio tan drástico en los valores obtenidos durante el periodo de almacenamiento, hace pensar que ha habido un problema en el proceso de extracción, derivatización o en el análisis de las muestras en el cromatógrafo. Dichos resultados no han podido ser repetidos a causa de la escasez de tiempo y de la poca muestra disponible. Una posible explicación es la alta sensibilidad del detector empleado y del método de análisis empleado (comparación de tiempos de retención con estándar y búsqueda en biblioteca de espectrometría de masas). Cualquier cambio en el analito, debido a la elevada oxidación observada en el TBARs, conduciría a que el tiempo de retención se modificara conduciendo a co-eluciones, y otros fenómenos cromatográficos que harían imposible la identificación de los ácidos grasos oxidados por ninguno de los métodos empleados para la identificación. Se observó que la señal total observada para el conjunto de los picos detectados no variaba significativamente entre los diferentes días de análisis, lo que apoya la teoría de que efectivamente todos los ácidos grasos estaban presentes, pero en sus formas oxidadas y por tanto no pudieron ser detectados/ identificados correctamente. Se recomienda pues una modificación del método de análisis y que se adapte a ácidos grasos altamente oxidados para poder así poder realizar un análisis fiable.

Tabla 14. Porcentaje de AGS, AGMI y AGPI para los días 0 de toma de muestra, para cada muestra la primera B indica el lote y la segunda B el número de hamburguesa.

| | Día 0 | | | | | |
|--------------|---------------|------|----------------|------|----------------|------|
| | Total AGS (%) | SD | Total AGMI (%) | SD | Total AGPI (%) | SD |
| B1B1 | 51,44 | | 39,46 | | 9,09 | |
| B2B1 | 60,67 | 1,28 | 36,71 | 0,59 | 2,62 | 0,69 |
| B3B1 | 59,73 | 0,10 | 38,13 | 0,08 | 2,13 | 0,03 |
| B4B1 | 60,35 | 0,55 | 37,10 | 0,70 | 2,55 | 0,15 |
| B5B1 | 54,36 | 4,13 | 39,78 | 0,45 | 5,86 | 4,58 |
| B6B1 | 60,43 | 0,26 | 37,09 | 0,42 | 2,48 | 0,16 |
| B7B1 | 56,27 | 6,82 | 39,19 | 0,39 | 4,55 | 6,43 |
| B8B1 | 54,33 | 4,09 | 40,49 | 1,45 | 5,18 | 5,54 |
| B9B1 | | | | | | |
| B10B1 | 57,25 | 0,20 | 39,79 | 0,33 | 2,96 | 0,13 |

Tabla 15. Porcentaje de AGS, AGMI y AGPI para los días 4 de toma de muestra, para cada muestra la primera B indica el lote y la segunda B el número de hamburguesa.

| | Día 4 | | | | | |
|--------------|---------------|-------|----------------|-------|----------------|-------|
| | Total AGS (%) | SD | Total AGMI (%) | SD | Total AGPI (%) | SD |
| B1B3 | 13,35 | 10,23 | 20,26 | 11,07 | 66,40 | 21,30 |
| B2B3 | 10,13 | 0,37 | 34,73 | 0,50 | 55,14 | 0,87 |
| B3B3 | 5,81 | 0,23 | 27,22 | 5,24 | 66,96 | 5,01 |
| B4B3 | 6,09 | 0,02 | 20,42 | 17,52 | 73,49 | 17,50 |
| B5B3 | 14,50 | 12,70 | 41,59 | 16,22 | 73,99 | 13,61 |
| B6B3 | 8,38 | 0,26 | 25,53 | 5,64 | 59,27 | 15,01 |
| B7B3 | 18,99 | 13,40 | 38,91 | 26,23 | 72,17 | 2,89 |
| B8B3 | 15,35 | 12,21 | 40,05 | 28,92 | 74,68 | 1,40 |
| B9B3 | 5,34 | 1,05 | 20,34 | 7,60 | 74,32 | 6,55 |
| B10B3 | 6,08 | 1,99 | 25,07 | 13,81 | 68,84 | 15,80 |

Tabla 16. Porcentaje de AGS, AGMI y AGPI para los días 7 de toma de muestra, para cada muestra la primera B indica el lote y la segunda B el número de hamburguesa.

| | Día 7 | | | | | |
|--------------|---------------|------|----------------|-------|----------------|---------|
| | Total AGS (%) | SD | Total AGMI (%) | SD | Total AGPI (%) | SD |
| B1B4 | 6,35 | 0,25 | 26,01 | 8,50 | 66,56 | 7,22945 |
| B2B4 | 9,51 | 0,20 | 34,82 | 0,04 | 55,68 | 0,15857 |
| B3B4 | 6,57 | 0,03 | 33,88 | 0,61 | 59,55 | 0,57652 |
| B4B4 | 4,99 | 2,47 | 17,86 | 2,18 | 77,15 | 4,6429 |
| B5B4 | 5,32 | 0,37 | 31,08 | 1,67 | 63,60 | 2,0397 |
| B6B4 | 8,72 | 0,17 | 25,20 | 13,95 | 66,08 | 14,118 |
| B7B4 | 8,49 | 0,74 | 13,39 | 5,53 | 78,12 | 6,26447 |
| B8B4 | 5,70 | 0,15 | 11,51 | 0,38 | 82,80 | 0,5327 |
| B9B4 | 6,45 | 0,30 | 19,23 | 0,80 | 74,32 | 1,09727 |
| B10B4 | 5,33 | 0,20 | 21,45 | 16,30 | 73,23 | 16,5003 |

Los ácidos grasos más abundantes son C14:0 (ácido mirístico), C16:1 (ácido palmitoleico) y C18:2t (ácido linoélaídico).

4.4. Composición.

Como se puede observar a partir de las tablas 17 y 18, no existen diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los distintos lotes B1BX, B2BX... para un mismo día de análisis. Por lo tanto, se concluye que ni el tiempo de almacenaje ni la composición de ácidos grasos afecta al contenido en proteína de las distintas muestras.

Tablas 17 y 18. Contenido en proteína de los diferentes lotes a diferentes días de almacenamiento. Expresado como gramos de proteína/100 gramos de muestra. ND: no diferencias significativas.

| | B10 | | B9 | | B8 | | B7 | | B6 | |
|--------------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| | Media | SD |
| DIA 1 | 22,2 | 2,17 | 21,44 | 0,67 | 23,62 | 0,51 | 20,45 | 0,46 | 21,96 | 0,64 |
| DIA 4 | 22,79 | 0,98 | 21,56 | 0,95 | 23,13 | 0,16 | 21,35 | 1,06 | 22,06 | 0,25 |
| DIA 7 | 22,68 | 0,78 | 20,35 | 1,9 | 21,89 | 1,54 | 20,47 | 1,81 | 21,48 | 0,97 |
| ANOVA | ND | |

| | B5 | | B4 | | B3 | | B2 | | B1 | |
|--------------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| | Media | SD |
| DIA 1 | 21,67 | 1,83 | 23,29 | 0,4 | 22,36 | 0,39 | 21,97 | 0,73 | 21,71 | 1,22 |
| DIA 4 | 22,71 | 0,34 | 23,27 | 0,16 | 22,71 | 0,32 | 22,67 | 0,1 | 23,39 | 0,48 |
| DIA 7 | 22,46 | 1,28 | 22,8 | 1,07 | 22,34 | 0,5 | 22,61 | 0,19 | 22,68 | 1,5 |
| ANOVA | ND | |

En cuanto al contenido de humedad, no se observan diferencias significativas en los lotes 1, 2, 4, 5, 8, 9 y 10 ($p > 0,05$), sí en el resto de los lotes. Dentro del lote 7, tanto el B7B1 (día 0) como el B7B4 (día 7) son distintos significativamente entre sí ($p < 0,05$), pero no distintos significativamente con el B7B3 (día 4) ($p > 0,05$). Para el lote 6, el B6B1 es distinto significativamente ($p < 0,05$) a B6B3 y a B6B4, pero estos dos últimos no son distintos significativamente entre sí. Por último, dentro del lote 3 el contenido de humedad es significativamente distinto para los tres días de ensayo ($p < 0,05$).

Las tres letras (A, B y C) hacen referencia a diferencias significativas o no en un mismo lote para distintos días, leyéndose de izquierda a derecha (la letra más a la izquierda hace referencia al primer día). Si las letras son iguales quiere decir que no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) y si las letras son distintas, sí hay diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tablas 19 y 20. Contenido de humedad de los diferentes lotes a diferentes días de almacenamiento. Expresado como g H₂O/100 gramos de muestra. ND: no diferencias significativas.

| | B5 | | B4 | | B3 | | B2 | | B1 | |
|--------------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|
| | Media | SD |
| DIA 1 | 70,9 | 0,06 | 70,74 | 0,07 | 72,12 | 0,1 | 68,02 | 0,17 | 72,34 | 0,25 |
| DIA 4 | 71,14 | 0,32 | 69,47 | 0,56 | 70,85 | 0,09 | 67,22 | 0,09 | 73 | 0,54 |
| DIA 7 | 70,33 | 0,11 | 70,52 | 0,11 | 69,77 | 0,25 | 67,33 | 0,55 | 72,18 | 0,62 |
| ANOVA | ND | | ND | | C,B,A | | ND | | ND | |

| | B10 | | B9 | | B8 | | B7 | | B6 | |
|--------------|------------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|
| | Media | SD | Media | SD | Media | SD | Media | SD | Media | SD |
| DIA 1 | 71,32 | 0,27 | 70,46 | 0,39 | 69,92 | 0,02 | 65,01 | 0,1 | 69,71 | 0,22 |
| DIA 4 | 71,16 | 0,17 | 69,62 | 0,4 | 68,87 | 0,41 | 64,6 | 0,05 | 68,5 | 0,21 |
| DIA 7 | 70,32 | 0,05 | 70,31 | 0,27 | 69,44 | 0,75 | 64,08 | 0,15 | 68,11 | 0,06 |
| ANOVA | ND | | ND | | ND | | B,AB,A | | A, B, B | |

Por último, el contenido en grasa no refleja diferencias significativas ($p > 0,05$) para los lotes 1, 6, 8, 9 y 10, pero sí para el resto de los lotes. Dentro del lote 2, B2B1 y B2B3 son significativamente distintos ($p < 0,05$) a B2B4. Tanto en el lote 3 como en el lote 5, las muestras del día 0 son significativamente distintas ($p < 0,05$) a las del día 7, pero no respecto a las del día 4 ($p > 0,05$). En el lote 4, las muestras del día 4 y del día 7 son significativamente distintas ($p < 0,05$) entre sí pero no respecto al día 0 ($p > 0,05$). Por último, para el lote 7, las muestras del día 0 y del día 7 son significativamente distintas ($p < 0,05$) pero no con respecto al día 4 ($p > 0,05$). Se puede observar con la cantidad de grasa, cuando se compara entre los diferentes lotes, varía en un rango entre el 3 y el 14%. Sin embargo, estas grandes diferencias no supusieron un impacto en el nivel de oxidación observado. Es decir, mayor cantidad de grasa en la composición no pudo ser relacionada con un incremento en la oxidación total del producto final.

Las tres letras (A y B) hacen referencia a diferencias significativas o no en un mismo lote para distintos días, leyéndose de izquierda a derecha (la letra más a la izquierda hace referencia al primer día). Si las letras son iguales quiere decir que no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) y si las letras son distintas, sí hay diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tablas 21 y 22. Contenido en grasa de los diferentes lotes a diferentes días de almacenamiento. Expresado como gramos de grasa/100 gramos de muestra. ND: no diferencias significativas.

| | B10 | SD | B9 | SD | B8 | SD | B7 | SD | B6 | SD |
|--------------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| | Media | | Media | | Media | | Media | | Media | |
| DIA 1 | 4,23 | 0,11 | 6,69 | 0,12 | 6,32 | 0,02 | 14,11 | 0,14 | 7,96 | 0,08 |
| DIA 4 | 4,01 | 0,12 | 6,86 | 0,03 | 6,72 | 0,14 | 14,88 | 0,03 | 8,81 | 0,23 |
| DIA 7 | 4,55 | 0,14 | 6,89 | 0,08 | 6,44 | 0,1 | 13,93 | 0,06 | 7,97 | 0,06 |
| ANOVA | ND | | ND | | ND | | B, A, B | | ND | |

| | B5 | SD | B4 | SD | B3 | SD | B2 | SD | B1 | SD |
|--------------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|--------------|-----------|
| | Media | | Media | | Media | | Media | | Media | |
| DIA 1 | 6,03 | 0,02 | 5,63 | 0,01 | 5,16 | 0,17 | 9,6 | 0,07 | 3,46 | 0,06 |
| DIA 4 | 5,37 | 0,21 | 6,06 | 0,15 | 5,49 | 0,04 | 9,78 | 0,13 | 3,12 | 0,11 |
| DIA 7 | 4,68 | 0,06 | 5,38 | 0,14 | 5,9 | 0,06 | 10,97 | 0,11 | 3,12 | 0,03 |
| ANOVA | A, AB, B | | AB, A, B | | B, AB, A | | B, B, A | | ND | |

4.5. Pérdida de agua por cocción.

Analizando los resultados de pérdida de agua por cocción se concluye que el contenido en agua no se ve afectado por el tiempo de almacenamiento o la composición de ácidos grasos insaturados puesto que los valores obtenidos apenas varían. La alta oxidación observada, no se ha visto reflejada en una disminución de la pérdida por cocción, debido a posible entrecruzamientos y polimerizaciones de las proteínas fibrilares, responsables de retener el agua después de la cocción.

Tabla 23. Pérdida de agua por cocción. Expresado en % del peso inicial obtenido después de cocer. No diferencias significativas fueron observadas.

| PÉRDIDA DE AGUA POR COCCIÓN | | | | |
|------------------------------------|-----------------------|------------|-----------------------|------------|
| Día 14 | Bajo contenido en AGI | 71,51±1,33 | Bajo contenido en AGI | 73,11±0,91 |
| Día 7 | Alto contenido en AGI | 73,32±2,69 | Alto contenido en AGI | 73,63±1,18 |

4.6. Textura.

Las tablas 24 y 25 reflejan los resultados obtenidos tras realizar el TPA con las muestras tomadas el día 7 y el día 14. Tras la comparación de ambas tablas se puede deducir que:

- La dureza apenas varía, exceptuando para los lotes 2, 4, 6 y 8 donde se ve un incremento de casi el doble o más del doble. Un aumento en la dureza es lo esperable.
- La masticabilidad aumenta exceptuando para el lote 1.
- La gomosidad aumenta exceptuando para el lote 1.
- Tanto la elasticidad como la resiliencia permanecen casi invariables para todos los lotes.

Comparando los valores obtenidos a los discretos en la literatura para hamburguesas de ternera se encuentra que tanto los valores de dureza, como los de masticabilidad y gomosidad son anómalamente elevados. Esto se puede explicar porque las hamburguesas de cordero no tenían ningún tipo de conservante que pudiese ayudar a conservar la textura de la carne. Sin embargo, los valores para elasticidad y resiliencia si concuerdan con los valores publicados por otros autores (Ganhão, Morcuende, Estévez; 2010). El aumento tanto en la dureza como en la gomosidad son aspectos indeseables que pueden llevar al rechazo de la carne por parte del consumidor. El daño oxidativo a las proteínas puede provocar una disminución de su solubilidad que haga que se agreguen y formen un complejo debido a la formación de entrecruzamientos.

Tabla 24. Valores medios de los distintos parámetros medidos en TPA y sus desviaciones estándar para el día 7 de toma de muestra.

| | Dureza (N) | SD | Masticabilidad (N) | SD | Gomosidad (N) | SD | Elasticidad (mm) | SD | Resiliencia (adimensional) | SD |
|--------------|------------|-------|--------------------|-------|---------------|-------|------------------|------|----------------------------|------|
| B1B7 | 119,62 | 24,08 | 366,62 | 35,10 | 76,10 | 7,01 | 4,82 | 0,02 | 0,65 | 0,13 |
| B2B7 | 128,81 | 12,72 | 229,46 | 30,63 | 52,90 | 6,01 | 4,33 | 0,18 | 0,41 | 0,02 |
| B3B7 | 133,44 | 9,15 | 280,39 | 4,95 | 63,23 | 1,30 | 4,44 | 0,14 | 0,48 | 0,04 |
| B4B7 | 146,80 | 4,97 | 290,83 | 61,05 | 65,49 | 10,42 | 4,42 | 0,26 | 0,45 | 0,08 |
| B5B7 | 138,44 | 2,11 | 243,15 | 5,85 | 56,87 | 1,13 | 4,28 | 0,10 | 0,41 | 0,01 |
| B6B7 | 132,82 | 6,08 | 220,38 | 33,99 | 52,50 | 6,04 | 4,19 | 0,20 | 0,39 | 0,03 |
| B7B7 | 93,38 | 21,30 | 132,53 | 7,01 | 33,11 | 0,95 | 4,01 | 0,31 | 0,37 | 0,08 |
| B8B7 | 75,35 | 12,37 | 175,30 | 27,35 | 44,91 | 3,86 | 3,89 | 0,31 | 0,60 | 0,05 |
| B9B7 | 102,52 | 23,15 | 215,10 | 37,20 | 47,98 | 9,20 | 4,49 | 0,09 | 0,47 | 0,04 |
| B10B7 | 156,69 | 20,94 | 314,79 | 47,10 | 71,14 | 6,22 | 4,42 | 0,41 | 0,46 | 0,06 |

Debido al crecimiento microbiológico anómalo que presentaron algunas hamburguesas del BXB8 (100g) hubo que emplear hamburguesas del BXB5 (75g), tal como se puede ver en la tabla 25.

Tabla 25. Valores medios de los distintos parámetros medidos en TPA y sus desviaciones estándar para el día 14 de toma de muestra.

| | Dureza (N) | SD | Masticabilidad (N) | SD | Gomosidad (N) | SD | Elasticidad (mm) | SD | Resiliencia (adimensional) | SD |
|--------------|------------|-------|--------------------|--------|---------------|-------|------------------|------|----------------------------|------|
| B1B8 | 129,95 | 28,80 | 326,52 | 47,50 | 71,20 | 12,70 | 4,60 | 0,18 | 0,55 | 0,02 |
| B2B5 | 322,51 | 17,14 | 547,36 | 17,14 | 130,01 | 17,14 | 4,21 | 4,21 | 0,40 | 0,40 |
| B3B8 | 159,34 | 77,73 | 353,96 | 32,45 | 77,73 | 7,11 | 4,55 | 4,55 | 0,49 | 0,49 |
| B4B5 | 350,21 | 66,62 | 826,99 | 309,87 | 182,04 | 52,18 | 4,48 | 0,39 | 0,52 | 0,07 |
| B5B8 | 164,90 | 5,67 | 390,45 | 77,06 | 82,95 | 13,66 | 4,69 | 0,16 | 0,50 | 0,07 |
| B6B5 | 373,83 | 32,49 | 742,89 | 74,28 | 166,66 | 15,88 | 4,46 | 0,04 | 0,45 | 0,01 |
| B7B5 | 188,20 | 4,76 | 334,37 | 15,35 | 77,69 | 2,29 | 4,30 | 0,07 | 0,41 | 0,02 |
| B8B5 | 273,80 | 29,72 | 602,72 | 42,65 | 131,67 | 11,69 | 4,58 | 0,14 | 0,48 | 0,02 |
| B9B8 | 131,15 | 7,81 | 302,49 | 77,06 | 65,69 | 3,72 | 4,61 | 0,10 | 0,50 | 0,01 |
| B10B8 | 174,52 | 29,98 | 412,42 | 51,08 | 89,09 | 12,14 | 4,64 | 0,08 | 0,51 | 0,02 |

5. Conclusiones.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se concluye lo siguiente dando respuesta así a los objetivos planteados en este trabajo:

- El distinto contenido inicial de ácidos grasos insaturados no tuvo un efecto apreciable en ninguno de los parámetros aquí estudiados, probablemente debido a la alta oxidación inicial y a que las diferencias en su contenido, aunque significativas, no son suficientes como para promover cambios apreciables en los productos finales
- Las variaciones observadas en a^* , b^* y L^* se corresponden con lo esperado, ya que a medida que la carne pasa más tiempo almacenada el color rojo (a^*) característico va disminuyendo debido a la oxidación de la mioglobina y a la decoloración de la carne, aparición del color marrón (b^*), con el consiguiente rechazo por parte del consumidor. Además, la grasa al oxidarse adquiere un color amarillo (L^*) que aumenta con el tiempo de almacenamiento.
- El análisis de textura indica un aumento general de la dureza, aunque no hay relación entre el tipo de muestra analizada y los incrementos observados.
- Para los valores de oxidación lipídica, se encontró que eran demasiado altos incluso para el día 0, probablemente debido a que las muestras ya habían sufrido oxidación. No obstante, se pudo comprobar, que independientemente del perfil lipídico de las muestras no se observaron diferencias apreciables en los valores finales de oxidación.
- En cuanto al análisis de la composición de ácidos grasos, solo en el primer día de muestra se pudieron detectar perfiles de ácidos grasos similares a los esperados. Sin embargo, tanto para el día 4 como para el día 7 solo se observaron tres ácidos grasos, probablemente debido otra vez a que las muestras ya habían sufrido oxidación. Un método más adecuado para analizar ácidos grasos muy oxidados debería haber sido empleado.
- Del análisis de composición se concluye que estos parámetros no se ven influenciados por el tiempo de almacenaje ni por la composición inicial de las muestras. Lo mismo se pudo observar para la pérdida por cocción, que no muestra diferencias significativas.

6. Bibliografía.

Hayes, Aoife, and Kevin D. Cashman. "Food-based solutions for vitamin D deficiency: putting policy into practice and the key role for research." *Proceedings of the Nutrition Society* 76.1 (2017): 54-63.

Zhong, Ying, et al. "Compositional characteristics of muscle and visceral oil from steelhead trout and their oxidative stability." *Food Chemistry* 104.2 (2007): 602-608.

McAfee, Alison J., et al. "Red meat consumption: An overview of the risks and benefits." *Meat science* 84.1 (2010): 1-13.

Scerra, M., et al. "Influence of ewe feeding systems on fatty acid composition of suckling lambs." *Meat Science* 76.3 (2007): 390-394.

Boles, Jane Ann, and Ronald Pegg. "Meat color." *Montana State University and Saskatchewan Food Product Innovation, Program University of Saskatchewan* (2010).

Martinez, M.A.L., Perez H.M., Perez A.L., Gomez C.G., Carrion P.D. 2010. "Metabolismo de los lípidos en los ruminates". *Revista Electronica de Veterinaria*. 11:1-21.

Horcada-Ibáñez, Alberto, et al. "Effect of sex and fat depot location on fat composition of Rasa Aragonesa lambs." *Agrociencia* 43.8 (2009).

Tejeda, Juan Florencio, Ramón E. Peña, and Ana I. Andrés. "Effect of live weight and sex on physico-chemical and sensorial characteristics of Merino lamb meat." *Meat science* 80.4 (2008): 1061-1067.

Karabacak, Ali, İbrahim Aytekin, and Saim Boztepe. "Fatty Acid Composition and Conjugated Linoleic Acid Content in Different Carcass parts of Dağlıç Lambs." *The Scientific World Journal* 2014 (2014).

Juárez, M., et al. "Meat and fat quality of unweaned lambs as affected by slaughter weight and breed." *Meat Science* 83.2 (2009): 308-313.

Martínez-Cerezo, S., et al. "Breed, slaughter weight and ageing time effects on physico-chemical characteristics of lamb meat." *Meat Science* 69.2 (2005): 325-333.

Vergara, Herminia, and Laureano Gallego. "Effects of gas composition in modified atmosphere packaging on the meat quality of Spanish Manchega lamb." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81.14 (2001): 1353-1357.

Jongberg, Sisse, et al. "Effect of white grape extract and modified atmosphere packaging on lipid and protein oxidation in chill stored beef patties." *Food Chemistry* 128.2 (2011): 276-283.

Bao, Yulong, Eero Puolanne, and Per Ertbjerg. "Effect of oxygen concentration in modified atmosphere packaging on color and texture of beef patties cooked to different temperatures." *Meat science* 121 (2016): 189-195.

Pytel, Edyta, et al. "Increased oxidative stress and decreased membrane fluidity in erythrocytes of CAD patients." *Biochemistry and cell biology* 91.5 (2013): 315-318.

Ghaeni, Mansoreh, Khadijeh Nabi Ghahfarokhi, and Ladan Zaheri. "Fatty acids profile, atherogenic (IA) and thrombogenic (IT) health lipid indices in *Leiognathus bindus* and *Upeneus sulphureus*." *Journal of Marine Science. Research & Development* 3.4 (2013): 1.

Velasco, S., et al. "Effect of different feeds on meat quality and fatty acid composition of lambs fattened at pasture." *Meat Science* 66.2 (2004): 457-465.

DE HUIDOBRO, F. RUIZ, et al. "Características instrumentales y sensoriales de la carne de corderos lechales de raza Talaverana." *Investigación agraria. Producción y sanidad animales* 13.1 (1998): 21-30.

Watkins, P. J., et al. "Age and nutrition influence the concentrations of three branched chain fatty acids in sheep fat from Australian abattoirs." *Meat science* 86.3 (2010): 594-599.

Sañudo, C., et al. "Fatty acid composition and sensory characteristics of lamb carcasses from Britain and Spain." *Meat Science* 54.4 (2000): 339-346.

Enser, M., et al. "Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition." *Meat science* 49.3 (1998): 329-341.

Barriuso, Blanca, Iciar Astiasarán, and Diana Ansorena. "A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task." *European Food Research and Technology* 236.1 (2013): 1-15.

Seideman, S. C., et al. "Factors associated with fresh meat color: a review." *Journal of Food Quality* 6.3 (1984): 211-237.

Escalante, Armida Sánchez, et al. "Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos." *Nacameh* 2.2 (2008): 124-159.

Andrés, A. I., et al. "Food by-products as potential antioxidant and antimicrobial additives in chill stored raw lamb patties." *Meat science* 129 (2017): 62-70.

Camo, Javier, José Antonio Beltrán, and Pedro Roncalés. "Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging." *Meat Science* 80.4 (2008): 1086-1091.

Bellés, M., et al. "A review of fresh lamb chilling and preservation." *Small Ruminant Research* 146 (2017): 41-47.

Salgado, P. R., Fernández, G. B., Drago, S. R., & Mauri, A. N. (2011). Addition of bovine plasma hydrolysates improves the antioxidant properties of soybean and sunflower protein-based films. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1433-1440.

Mokrzycki, W., & Tatol, M. (2011). Colour difference ΔE --A survey. *Machine Graphics & Vision*, 20(4).

AOAC, Crude protein in Meat and Meat Products Including Pet Foods 992.15, Combustion method, in *Official Methods of Analysis of AOAC International* ed. by Cunniff P. AOAC International, Arlington, VA: (1996) .

AOAC, Moisture in Meat and Poultry Products - Rapid Microwave Drying Method 985.14, in *Official Methods of Analysis of AOAC International* ed. by Cunniff P. AOAC International, Arlington, VA: (1995).

AOAC, Fat (Crude) in meat and poultry products 985.15, in *Official Methods of Analysis of AOAC International* ed. by Cunniff P. AOAC International, Arlington, VA: (1995).

Dillon, Vivian M., and R. G. Board. "Yeasts associated with red meats." *Journal of applied bacteriology* 71.2 (1991): 93-108.

Cózar, Almudena, Noemí Rubio, and Herminia Vergara. "Combined effect of the spice and the packaging method on lamb burgers shelf-life made with high value cuts." *CyTA-Journal of Food* 16.1 (2018): 544-552.

Kerry, J. P., et al. "The effects of dietary α -tocopheryl acetate supplementation and modified atmosphere packaging (MAP) on the quality of lamb patties." *Meat Science* 56.1 (2000): 61-66.

Nudda, Anna, et al. "Documentation of fatty acid profiles in lamb meat and lamb-based infant foods." *Journal of food science* 76.2 (2011): H43-H47.

Gutiérrez, J. I., et al. "Evolution of the fatty acid composition and oxidative stability of Merino lamb meat stored under different modified atmospheres." *Irish Journal of Agricultural and Food Research* (2013): 81-92.

Ganhão, Rui, David Morcuende, and Mario Estévez. "Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: Influence on colour and texture deterioration during chill storage." *Meat science* 85.3 (2010): 402-409.

Referencias Online

1. IARC Monographs evaluate consumption of red meat and processed meat (2015). Disponible en: https://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2015/pdfs/pr240_E.pdf . Consultado Julio 2018.
2. Harvard Health Publishing (2015). Disponible en: <https://www.health.harvard.edu/staying-healthy/the-truth-about-fats-bad-and-good> . Consultado Julio 2018.
3. Wikipedia MDA. Disponible en: <https://en.wikipedia.org/wiki/Malondialdehyde> Consultado Julio 2018.
4. Wikipedia Espacio de color. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Espacio_de_color_Lab Consultado Julio 2018.
5. SnyderHACCP (1908). Disponible en: <http://www.hi-tm.com/1908/SECTION-4-C-1908.pdf> . Consultado Julio 2018.
6. Texture technologies. Disponible en: <http://texturetechnologies.com/resources/texture-profile-analysis> Consultado Julio 2018.

Libros

- A. Grasas, F. A. O. "ácidos grasos en nutrición humana: consulta de expertos." Granada: Fundación Iberoamericana de Nutrición (FINUT) (2012).
- B. Ángel, Gil Hernández. "Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos Editorial panamericana." (2010): 26-30.
- C. Beltrán, José A., Pedro Roncalés, and Marc Bellés. "Biochemical Reactions During Fresh Meat Storage." (2015).