



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Aplicación de los Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje en productos cárnicos:
evaluación de su potencial en procesos de curado

Application of Pulsed Electric Fields in meat products: evaluation of its
potential in curing processes

Autor/es

Leire Astráin Redín

Director/es

Ignacio Álvarez Lanzarote

Guillermo Cebrián Auré

Facultad de Veterinaria

Junio 2018

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 1 |
| ABSTRACT | 1 |
| 1. INTRODUCCIÓN | 2 |
| 1.1. Productos cárnicos crudo-curados | 2 |
| 1.2. Proceso de secado | 3 |
| 1.3. Pulsos eléctricos de alto voltaje (PEAV) | 5 |
| 1.4. Aspectos técnicos del tratamiento de PEAV | 6 |
| 1.5. Aplicación de los PEAV en la industria alimentaria | 7 |
| 2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO | 8 |
| 3. MATERIAL Y MÉTODOS | 9 |
| 3.1. Materia prima | 10 |
| 3.2. Tratamientos de Pulsos eléctricos de alto voltaje | 10 |
| 3.2.1. Equipo ScandiNova 6 MW | 11 |
| 3.2.2. Equipo EPULSUS-PM-10 | 11 |
| 3.2.3. Equipo Nutri - Pulse E - Cooker NPB06 | 12 |
| 3.3. Obtención y modelización de las curvas de deshidratación | 13 |
| 3.3.1. Curvas de deshidratación | 14 |
| 3.3.2. Descripción de las curvas de deshidratación con modelos matemáticos | 15 |
| 3.4. Proceso de fabricación de longanizas | 15 |
| 3.5. Determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos | 16 |
| 3.5.1. Humedad | 16 |
| 3.5.2. Capacidad de Retención de Agua (CRA) | 16 |
| 3.5.3. Determinación del pH | 17 |
| 3.5.4. Determinación de la actividad de agua (a_w) | 17 |
| 3.5.5. Análisis microbiológicos | 17 |
| 3.5.6. Análisis de textura | 18 |
| 3.6. Tratamiento estadístico de los datos | 18 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 19 |
| 4.1. Estudio de la aplicación de los PEAV en la deshidratación de carne | 19 |
| 4.1.1. Capacidad de los PEAV para permeabilizar las células musculares | 20 |
| 4.1.2. Influencia de la temperatura de secado en la velocidad de deshidratación | 21 |
| 4.1.3. Influencia de los parámetros PEAV en la deshidratación de la carne | 22 |
| 4.1.4. Influencia de tamaño de muestra en la deshidratación de la carne | 26 |
| 4.2. Efecto de los PEAV en la elaboración de longaniza | 30 |
| 5. CONCLUSIONES | 33 |
| 6. CONCLUSIONS | 34 |
| 7. VALORACIÓN PERSONAL | 34 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA | 35 |
| ANEXOS | 38 |

RESUMEN

La aplicación de Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje (PEAV) puede conducir a la electroporación celular lo que aceleraría los procesos de difusión de agua que suceden durante la deshidratación de los alimentos. Este aspecto puede ser interesante para productos cárnicos crudo-curados que presentan largos tiempos de secado. Sin embargo, casi no existen datos al respecto. El objetivo de este trabajo es realizar un estudio básico sobre la aplicación de PEAV en la carne para acelerar los procesos de deshidratación. Se trabajó con muestras de lomo de cerdo de en las que se evaluó la influencia de distintos parámetros del tratamiento de PEAV (intensidad de campo eléctrico, anchura de pulso, energía específica y orientación de las fibras musculares) y del proceso de desecación (temperatura del aire y tamaño de corte) en su velocidad de deshidratación. Se determinó que el tratamiento PEAV óptimo sería de 1 kV/cm, 200 μ s de anchura de pulso y 28 kJ/kg, aplicando el campo eléctrico de forma perpendicular a la orientación de las fibras musculares. Este tratamiento aumentó la deshidratación en un 60,4% tras el mismo tiempo de desecación a 4°C. El tamaño de corte/partícula fue un parámetro importante en la deshidratación observándose una mayor desecación en muestras con una relación superficie/volumen de 5,50 y en la carne picada con un tamaño de corte de 4 mm. En las condiciones ensayadas no se observaron diferencias en el tiempo de secado de las longanizas independientemente de si la carne había sido o no tratada por PEAV pero se obtuvieron resultados favorables en textura y evaluación sensorial. Los resultados muestran el potencial de los PEAV en los procesos de desecación de la carne, aunque es necesario realizar más investigaciones acerca de los cambios estructurales que suceden y del efecto de los PEAV en la deshidratación de la carne picada.

ABSTRACT

Pulsed Electric Field (PEF) technology can cause cell electroporation accelerating water diffusion process that happen, for instance, when drying food products. This can be of interest in meat cured products because of their long drying periods. However, there is hardly any data concerning to this point. Therefore, the aim of this work was to carry out a basic study about the potential of PEF technology to accelerate drying process in meat. PEF treatments were applied to loin pork samples and the influence of different PEF (electric field strength, pulse width, specific energy, muscle cell orientation) and air-drying parameters (air temperature, meat size pieces/particles) on the dehydration of meat was evaluated. An optimal PEF treatment of 1 kV/cm, 200 μ s of pulse width and 28 kJ/kg,

with the electric field applied perpendicularly to muscle cell orientation was determined. This treatment increased the dehydration of meat samples by 60,4% after the same dehydration time at 4°C. The size of meat pieces/particles noticeably influenced dehydration rates and the highest rates were found in samples with a surface/volume ratio of 5.50 and in minced meat with a cut size of 4 mm. No differences in dehydration rates were observed between cured sausages (Spanish “longaniza”) made of PEF- and non-PEF-treated meat, under de conditions assayed. However, texture analyses presented lower shear force values and the sensory evaluation was favourable to PEF-treated longanizas. These results show the potential of PEF technology in drying processes of meat based on the permeabilization of muscle cells. Even so, further research is necessary into structural cell changes and the effects of PEF in minced meat dehydration.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Productos cárnicos crudo-curados

Durante siglos, la elaboración de productos cárnicos curados se realizó de forma empírica desarrollándose una gran variedad de productos de larga vida útil y con características gustativas muy diferentes. No fue hasta el siglo XIX, cuando se escribió el primer libro sobre normas de fabricación y se comenzó a estudiar y comprender la química y microbiología del curado (Vidal, 1997). Tradicionalmente, los embutidos cárnicos crudos curados servían para la conservación de la carne, pero, actualmente, ha pasado a ser un método fundamental de transformación que permite elaborar productos con valor añadido, cómodos y que son apreciados por su aspecto, textura y flavor.

España es uno de los países con una tradición más rica en la elaboración y consumo de los más variados embutidos y jamones. Según datos de la Asociación Nacional de Industrias de la Carne de España (ANICE), la industria cárnica es el cuarto sector industrial de España, constituido básicamente por casi 3.000 pequeñas y medianas empresas. Ocupa con diferencia el primer lugar (más del 21,6%) de toda la industria española de alimentos y bebidas. La primera actividad cárnica española es la producción porcina que representa el 61,3% de todas las carnes producidas en España en 2014 y que nos sitúa como cuartos mayores productores a nivel mundial, con un 3,4% de la producción porcina global.

Según el Real Decreto 474/2014, *por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos*, se define como productos cárnicos crudos curados a “los productos sometidos

a un proceso de salazón y de curado-maduración, suficiente para conferirles las características organolépticas propias y de estabilidad a temperatura ambiente, que pueden someterse opcionalmente a ahumado”. Se dividen en piezas (jamón y paleta curados) y carnes troceadas o picadas (embutidos crudo curados).

La elaboración de embutidos crudos-curados consta de una primera etapa de picado donde se reduce el tamaño de la carne para conseguir aumentar la superficie de intercambio y que se facilite la extracción de agua durante la etapa de secado, así como la extracción de las proteínas hidrosolubles, responsables junto con otras sustancias, de la ligazón del producto. Posteriormente, se procede a su mezclado y amasado a vacío con el resto de ingredientes (condimentos y especias) y con los aditivos. Para favorecer la interacción entre los ingredientes y la ligazón de la pasta, ésta habitualmente se deja en refrigeración durante 24-48 horas, proceso conocido como “oreo”. La masa obtenida se embute en tripas naturales o artificiales y se llevan a las cámaras de maduración y desecación donde tendrá lugar el proceso de curado (Jiménez y Carballo, 1989; Vidal, 1997).

A lo largo de la maduración y desecación, procesos que se pueden englobar bajo en término “curado”, los embutidos experimentan una serie de transformaciones físicas, químicas, bioquímicas y microbiológicas. Las consecuencias fundamentales de este proceso son un aumento en la estabilidad del producto y el desarrollo de las propiedades organolépticas características (Jiménez y Carballo, 1989).

1.2. Proceso de secado

Para que el agua se elimine de los alimentos primero tiene lugar un proceso de difusión del agua en estado líquido a través de la estructura interna. Una vez que el agua alcanza la superficie del alimento se produce su evaporación para lo cual es necesario calor. Por lo tanto, el proceso supone realmente un transporte simultáneo de materia y calor (Casp y Abril, 2003).

La evolución de la humedad de un alimento a lo largo del tiempo de secado se muestra en la Figura 1 (Casp y Abril, 2003), donde se pueden distinguir las siguientes etapas:

1. *Período de estabilización*, se produce un acondicionamiento o calentamiento ligero del producto y del agua contenida en él hasta alcanzar la temperatura de bulbo húmedo característica del ambiente secante. En esta etapa la transferencia de energía es muy alta.
2. *Período de velocidad constante*: se produce una reducción importante del contenido de agua. La evaporación se efectúa en la superficie del producto, a temperatura

constante, siendo ésta la de bulbo húmedo del aire. En la mayoría de los casos, esta etapa finaliza cuando el contenido medio de humedad del producto alcance el valor de la humedad crítica.

3. *Período de velocidad decreciente*: comienza cuando la superficie del producto en contacto con el aire de secado alcanza el umbral de higroscopicidad (alcanza la humedad crítica). La zona de evaporación o “frente de secado” se desplaza desde la superficie al interior del producto y la migración del agua es cada vez más difícil, ralentizando el proceso. Esta fase es la que condiciona en mayor medida el tiempo de secado de un producto.

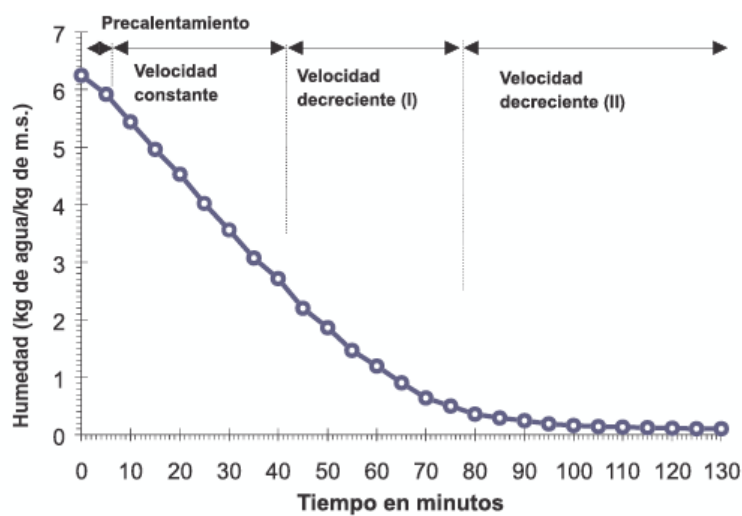


Figura 1. Curva de deshidratación

Para conseguir un buen secado, la transferencia de agua desde la superficie del producto al aire que lo rodea y la transferencia del agua del interior a la superficie del producto deben ser del mismo orden. Si la transferencia externa es muy superior a la interna pueden producirse problemas de encostrado superficial, dificultando el secado posterior del interior de la pieza. En cambio, si la transferencia externa es muy baja el proceso será muy lento, lo que comportará un proceso de secado excesivamente largo (Gou y Comaposada, 2002). Además, hay que considerar que en el caso de los productos cárnicos crudo-curados, las temperaturas de secado son bajas (4-24°C) en comparación con un proceso de deshidratación de otros productos, por lo que los tiempos de deshidratación son prolongados (de días a meses). Es por ello que cualquier estrategia que mejore los fenómenos de transferencia de masa, acortarán los tiempos de deshidratación con las consecuentes ventajas. Los Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje podrían ser una opción en este sentido.

1.3. Pulsos eléctricos de alto voltaje (PEAV)

El tratamiento de pulsos eléctricos de alto voltaje (PEAV) consiste en la aplicación de campos eléctricos de alta intensidad ($>0,1\text{kV/cm}$) y corta duración (del orden de mili a microsegundos) a un producto colocado entre dos electrodos (Barbosa-Cánovas et al., 2001). Este tratamiento provoca cambios estructurales en las membranas de células tanto procariotas como eucariotas, formando poros, lo que se traduce en un aumento de su permeabilidad al paso de moléculas e iones, proceso denominado electroporación.

La teoría más aceptada que explica el fenómeno de electroporación es el modelo electromecánico propuesto por Zimmerman, Pilwar y Riemann (1974). Según esta teoría, la membrana celular se compara con un condensador en cuyo interior existe un material con una constante dieléctrica baja en relación con la constante dieléctrica del interior de las células y la del medio en el que se encuentran suspendidas. En estas condiciones, se produce un acúmulo de cargas a ambos lados de la superficie de la membrana que generan una diferencia de potencial denominado potencial transmembrana de alrededor de 10 mV. Al aplicar un campo eléctrico externo, el número de cargas a ambos lados de la membrana aumenta y, por lo tanto, también lo hace el potencial transmembrana. El incremento de las cargas de diferente signo a ambos lados de la membrana provoca que se atraigan entre sí, con lo que la membrana se comprime. Cuando el campo eléctrico aplicado genera un potencial transmembrana de alrededor de 1 V, la compresión de la membrana provoca la formación de poros (Figura 2). Al valor umbral del campo eléctrico al que comienza a permeabilizarse la membrana se le denomina campo eléctrico crítico (E_c), que es mayor cuanto menor es el tamaño de la célula. Si la intensidad del campo eléctrico externo aplicado es similar a la del campo eléctrico crítico, la permeabilización es reversible desapareciendo los poros formados al cesar el tratamiento. La aplicación de intensidades de campo eléctrico superiores a este valor crítico provoca la permeabilización irreversible (Figura 2).

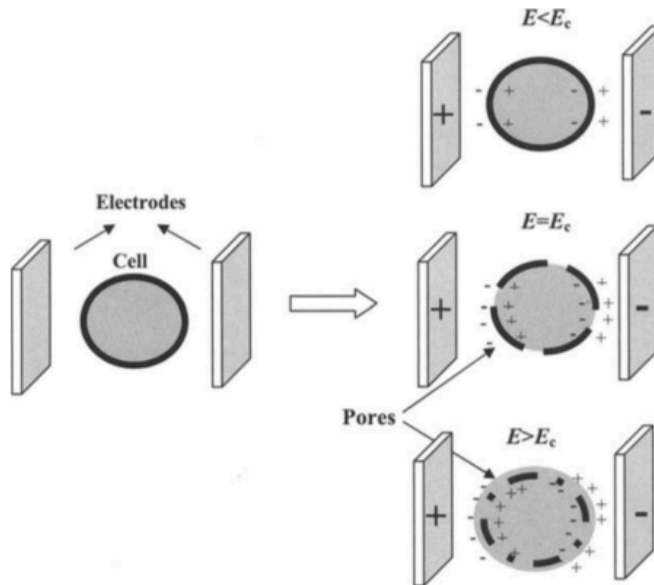


Figura 2. Efecto de un campo eléctrico externo sobre una célula según la teoría de Zimmerman. E_c : campo eléctrico crítico. E : campo eléctrico. E_c : campo eléctrico crítico.

1.4. Aspectos técnicos del tratamiento de PEAV

De forma resumida, un tratamiento mediante pulsos eléctricos de alto voltaje consiste en la carga de un condensador por medio de un generador eléctrico de alto voltaje y la descarga intermitente de la energía eléctrica almacenada en el mismo, durante intervalos de tiempo muy pequeños (μs), en una cámara de tratamiento. Para la aplicación de tratamientos PEAV, se han diseñado básicamente dos tipos diferentes de cámaras: de electrodos paralelos y de configuración colineal. La cámara de electrodos paralelos es la más sencilla geoméricamente y permite aplicar campos eléctricos uniformes en la zona de tratamiento (Raso et al., 1999) y es la que se ha utilizado en esta investigación.

Los parámetros que caracterizan la tecnología de PEAV son: la intensidad de campo eléctrico, la anchura y forma del pulso, el tiempo de tratamiento, el número de pulsos, la energía específica por pulso, la frecuencia y la resistencia de la cámara (Raso et al., 1999; Raso).

Intensidad de campo eléctrico (E) se define como la diferencia de potencial (V) existente entre los dos electrodos dividido por la distancia entre ellos (d). Se expresa en $kVcm^{-1}$.

$$E = V/d \quad (Ec. 1)$$

Forma del pulso: existen dos tipos de pulsos de caída exponencial y de onda cuadrada, estos últimos son los más aplicados y se caracterizan porque tras el incremento rápido del voltaje hasta el valor deseado, la diferencia de potencial se mantiene durante un determinado período de tiempo y desciende rápidamente.

Anchura de pulso (τ): en los pulsos de onda cuadrada, se corresponde con la duración del pulso (tiempo en el que la diferencia de potencial entre los electrodos se mantiene constante). Las anchuras utilizadas suelen ser del orden de μs o ms .

Tiempo de tratamiento (t): viene determinado por el número de pulsos y la anchura de los pulsos aplicados, calculándose según la siguiente ecuación:

$$t = n\tau \quad (\text{Ec. 2})$$

Frecuencia: representa el número de pulsos aplicados por unidad de tiempo y se expresa en Hz. Suele ser muy variable y puede oscilar entre 1 y 5000 Hz.

Energía específica del pulso: la forma más común de calcularla durante un tratamiento de pulsos de onda cuadrada es mediante la siguiente ecuación:

$$W = \frac{1}{m} \int_0^{\infty} k \cdot E_t^2 dt \quad (\text{Ec. 3})$$

donde m es la masa del producto (kg); k es la conductividad eléctrica del medio de tratamiento (S/m); E es la intensidad del campo eléctrico aplicado (V/cm); y dt el diferencial del tiempo (s) durante el cual se aplica el campo eléctrico.

1.5. Aplicación de los PEAV en la industria alimentaria

Los PEAV constituyen una de las tecnologías no térmicas más prometedoras para la inactivación microbiana en alimentos líquidos (Alvarez y Raso, 2017). Esto es debido a que la permeabilización celular producida por la aplicación de un campo eléctrico externo, provoca la pérdida de la integridad de la membrana de los microorganismos, que como consecuencia de ello no pueden mantener la homeostasis y terminan muriendo. El tipo de tratamientos que se aplicaría con esta tecnología se equipararía a la aplicación de un tratamiento de pasteurización ya que los esporos bacterianos son resistentes a los tratamientos con PEAV. La aplicación de esta tecnología está despertando interés especialmente para el tratamiento de alimentos sensibles al calor como los zumos de frutas, en los que se ha conseguido prolongar su vida útil hasta 21 días sin alterar las características del producto fresco ni su calidad nutricional (Alvarez y Raso, 2017).

Otra aplicación muy interesante de los PEAV es la mejora de los procesos de transferencia de masa. Convencionalmente, se han utilizado tecnologías como el calor o los enzimas para mejorar la transferencia de masa de muchos procesos. Sin embargo, estas tecnologías requieren una cantidad importante de energía térmica o mecánica y pueden provocar la pérdida de valor nutritivo y sensorial de los alimentos. Los tratamientos con PEAV podrían reemplazar a estas tecnologías convencionales al permitir la extracción de componentes a bajas temperaturas (Toepfl et al., 2006a). Así, se han realizado numerosos

estudios que demuestran el potencial de esta tecnología para incrementar la extracción de compuestos intracelulares de interés como polifenoles a partir de uva y patata roja o colorantes a partir de la remolacha roja, entre otros (Toepfl et al., 2006b). De la misma forma, la aplicación de tratamientos PEAV previa al proceso de deshidratación de distintas frutas y hortalizas como patatas y pimientos rojos permitiría aumentar la velocidad de deshidratación. Por ejemplo, se ha demostrado que un pre-tratamiento con PEAV sería capaz de reducir el tiempo de deshidratación convencional de un 20% a 30%, a temperaturas de deshidratación inferiores a 60°C. Es más, además de disminuir el tiempo de deshidratación, se observó que el tratamiento de PEAV permitiría reducir la temperatura de deshidratación obteniéndose productos deshidratados con unas mejores características sensoriales (Ade-Omowaye et al., 2000).

El interés por la aplicación de PEAV en el proceso de elaboración de productos cárnicos ha incrementado en los últimos años, como consecuencia de su potencial para inducir cambios en la microestructura de la carne que potencialmente podrían resultar en mejoras de sus propiedades funcionales y su calidad. No obstante, el efecto de los PEAV en la carne es muy complejo de estudiar ya que depende tanto de los parámetros de tratamiento PEAV (intensidad de campo eléctrico, energía aplicada, etc.), como de las propiedades de la carne y de las condiciones de la carne en el pre y post-tratamiento (congelación, grado de envejecimiento, etc.) (Alahakoon et al., 2016). Probablemente, esta dificultad es una de las principales causas de la poca información que existe a día de hoy acerca del uso de esta tecnología para este tipo de productos. Es más, la mayoría de las investigaciones que se han llevado hasta la fecha se han centrado en el estudio de su efecto para ablandar la carne y para incrementar o mejorar la incorporación de agua durante la preparación de productos cocidos. Sin embargo, los estudios acerca de la posible utilización de los PEAV en el curado de productos cárnicos son prácticamente, sino completamente, inexistentes.

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

La influencia de los PEAV en los fenómenos de transferencia de masa puede resultar de gran interés en el caso de la elaboración de productos cárnicos, sobre todo, en los productos crudo-curados. En ellos, durante el proceso de desecación y maduración (curado) se produce una serie de transformaciones físicas, químicas y microbiológicas muy dependientes de las condiciones de curado, donde el movimiento del agua y otros

compuestos que se van creando o transformando, acabarán condicionando las características del producto final. Por una parte, se van produciendo pérdidas de peso por efecto de la desecación, siendo necesario que ésta sea gradual y uniforme para evitar cavidades en el interior del embutido o la aparición de putrefacciones, por lo que el tiempo de secado es un parámetro importante a considerar en esta etapa. De forma general, y con el propósito de obtener productos con un color más intenso, mejor sabor y superior conservación, se buscan maduraciones lentas que se consiguen aplicando temperaturas bajas (5-15°C). Sin embargo, las maduraciones lentas suponen mayores costes de proceso por la inmovilización del producto durante periodos relativamente largos. Por todo ello podría ser interesante acortar estos tiempos de maduración, pero manteniendo la calidad del producto al máximo. Los PEAV, gracias al proceso de electroporación, podrían permitir acelerar los procesos de transferencia de masa que se producen durante la maduración y secado acortando los tiempos de curado.

Por todo ello, el **objetivo principal** de este trabajo es evaluar el efecto de la aplicación de tratamientos PEAV en la carne para la elaboración de productos crudo-curados (longaniza), prestando especial atención a la etapa de secado.

Para alcanzar este objetivo, se definieron los siguientes **objetivos parciales**:

1. Determinar la influencia de los parámetros básicos de los PEAV en la velocidad de secado de la carne.
2. Estudiar la influencia del tamaño de picado en la velocidad de deshidratación de la carne tratada por PEAV.
3. Validar los resultados obtenidos mediante la elaboración de un producto crudo-curado (longaniza).
4. Evaluar cómo los tratamientos de PEAV pueden afectar a otros aspectos de relevancia para los productos crudos curados tales como su microbiota y/o características sensoriales.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Como se describirá en más detalle posteriormente, este trabajo se dividió en dos partes bien diferenciadas. Una primera parte en la que estudió cómo diferentes parámetros del tratamiento de PEAV y características del producto afectan a la velocidad de deshidratación de la carne (obtención de curvas de deshidratación de la carne), y una

segunda consistente en una validación de los resultados obtenidos anteriormente en un proceso de fabricación de longaniza a escala de planta piloto.

3.1. Materia prima

El estudio se llevó a cabo utilizando lomo de cerdo adquirido en una tienda local. Para tratar de evitar que estados “patológicos” como las carnes PSE (Pale, Soft and Exhudative), que poseen una baja CRA, y que podrían enmascarar el efecto de los PEAV, todos los estudios se realizaron con cinta de lomo de cerdo de la raza Duroc que son menos propensos a sufrir este tipo de procesos (Reyna, Figueroa y Martínez, 2016). Se calculó una conductividad promedio de la carne de 5,6 mS/cm y un calor específico promedio de 2,8 kJ/kg °C (The Engineering Toolbox).

En cuanto a los estudios de validación en un proceso de fabricación de longaniza, se utilizaron los ingredientes y cantidades que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Ingredientes utilizados para la elaboración de las longanizas.

| Ingrediente | Cantidad (kg) |
|---|----------------------|
| Paleta de cerdo (adquirida en un supermercado local) | 7 |
| Tocino de cerdo (adquirida en un supermercado local) | 3 |
| Mezcla industrial (Prep. Longaniza Aragón, Gracia Goez S.C, Zaragoza, España) | 0,6 |
| Cultivo iniciador (Microcampa S cd. 40540; La Campana 1800, Liria, España) | 0,001 |
| Sorbato potásico (Gracia Góez S.C) (solución al 5%) | Inmersión |

3.2. Tratamientos de Pulsos eléctricos de alto voltaje

Para los tratamientos de PEAV, la carne se colocaba en la cámara de tratamiento PEAV asegurando que el contacto con los electrodos fuera máximo, evitando la existencia de bolsas de aire. Se investigó el efecto de distintos parámetros PEAV en la velocidad de deshidratación y en las condiciones más adecuadas, en la segunda parte de la investigación, se validó el proceso. Los parámetros investigados fueron la intensidad del campo eléctrico (desde 0,1 a 5 kV/cm), anchura de pulso (de 10 a 200 μ s), número de pulsos (variable según la intensidad de tratamiento y equipo utilizado) y energía específica aplicada (0 a 28 kJ/kg). Dependiendo de la investigación realizada y de la disponibilidad de los mismos, se utilizaron distintos equipos de PEAV que se describen a continuación.

3.2.1. Equipo ScandiNova 6 MW

Este equipo ScandiNova 6 MW (Modulator PG, ScandiNova, Uppsala, Suecia) (Figura 3a) genera pulsos de onda cuadrada monopolares de 3 μ s de duración de hasta 30 kV de voltaje y 200 A de intensidad, aplicando pulsos de hasta una frecuencia de 300 Hz. La selección (voltaje de carga) y el registro de los parámetros de procesado (voltaje y amperaje aplicados) se realizan mediante un software específico diseñado por la empresa fabricante (K1 - 15m, ScandiNova) a través de una pantalla táctil. El control de la frecuencia de aplicación de los pulsos se realiza a través de un generador de funciones (Tektronix AFG 3022, Wilsonville, OR, EE. UU.) conectado al generador. Un osciloscopio (Tektronix TDS 220) permite visualizar el pulso aplicado. La cámara de tratamiento utilizada es de electrodos paralelos consiste en dos cilindros de acero inoxidable de 2 cm de diámetro separados por un tubo de metacrilato dejando un espacio entre ambos electrodos de 2 cm (Figura 3b).



Figura 3. a) Equipo de PEAV ScandiNova. (1) Generador de pulsos, (2) Zona de tratamiento, (3) Pantalla táctil, (4) Osciloscopio, (5) Generador de funciones. b) Cámara de tratamiento de 2 x 2 cm.

3.2.2. Equipo EPULSUS-PM-10

El equipo (EPULSUS-PM-10, Energy Pulse System, Lisboa, Portugal) es un generador capaz de aplicar pulsos de onda cuadrada monopolares de anchura variable (desde 1 hasta 200 μ s) con una frecuencia de hasta 200 Hz. La tensión y la intensidad máxima de salida son de 10 kV y 180 A, respectivamente (Figura 4).

El control de los parámetros de procesado (voltaje de carga, anchura de pulso, número de pulsos y frecuencia) se realiza a través de una pantalla táctil. El voltaje aplicado, el amperaje y la duración del pulso se miden usando una sonda de alto voltaje (Tektronix, P6015A, Wilsonville, OR, EE. UU.) y una de intensidad de corriente (Stangenes Industries Inc. Palo Alto, CA, EE. UU.), respectivamente, conectados a un osciloscopio (Tektronix, TDS 220.) (Figura 4). Para realizar los estudios, se utilizaron diferentes cámaras de electrodos paralelos, una de ellas igual a la anteriormente descrita (Figura 5a),

otra también de electrodos cilíndricos de 4 cm de diámetro y 5 cm de separación de los electrodos (Figura 5b), y otra rectangular de 3,1x4,9cm (ancho x alto), con una separación de los electrodos de 3,1 cm (Figura 5c).

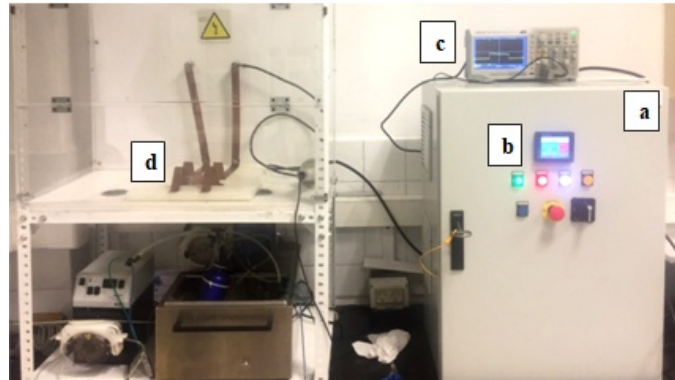


Figura 4. Equipo de PEAV EPULSUS®-PM-10. (a) Generador de pulsos; (b) Pantalla táctil; (c) Osciloscopio; (d) Zona de tratamiento.

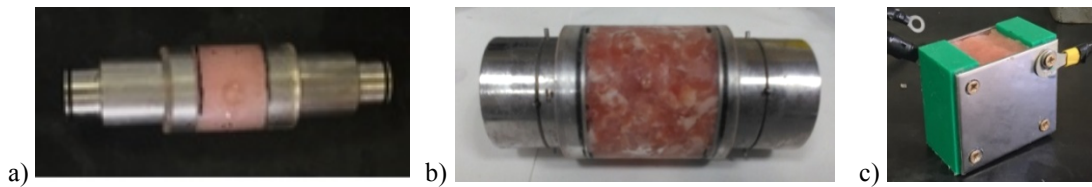


Figura 5. Cámaras de tratamiento PEAV de electrodos paralelos: a) Cámara cilíndrica de 2cmx2cm; b) cámara cilíndrica de 4cmx5 cm; c) Cámara rectangular de 3,1cmx3,1cmx4,9cm.

3.2.3. Equipo Nutri - Pulse E - Cooker NPB06

El equipo Nutri - Pulse E - Cooker NPB06 (IXL E - Cooker B.V., Schalkwijk, Países Bajos) se trata de un generador de pulsos eléctricos de onda cuadrada que aplica pulsos de distinta anchura (10 a 60 μ s) de 300 V a frecuencias de entre 300 y 400 Hz con una intensidad del campo eléctrico de 75 V/cm y un máximo de potencia de 3000 W (Figura 6a). El equipo se maneja mediante una pantalla táctil inalámbrica (iPad) en la que se pueden modificar la anchura de pulso (de 10 a 60 μ s), el tiempo entre set de pulsos (de 500 a 5000 ms), la temperatura de calentamiento (20 a 100 °C), el número de pulsos a aplicar (5000 a 80000 pulsos) y el tiempo de calentamiento. Cuenta con 3 cámaras de tratamiento independientes de 300 ml cada una que consisten en dos placas de titanio de 14x10 cm (ancho x alto) que actúan como electrodos separados por un material aislante (teflón) una distancia de 4 cm (Figura 6b). Cuando se indique, se adaptó al equipo la cámara rectangular anteriormente descrita con una separación de electrodos de 3,1 cm con el fin de tratar menores cantidades de carne. Para controlar el tratamiento aplicado, el equipo dispone para cada cámara de tratamiento de una sonda termopar con la que se mide y registra la temperatura del producto tratado.

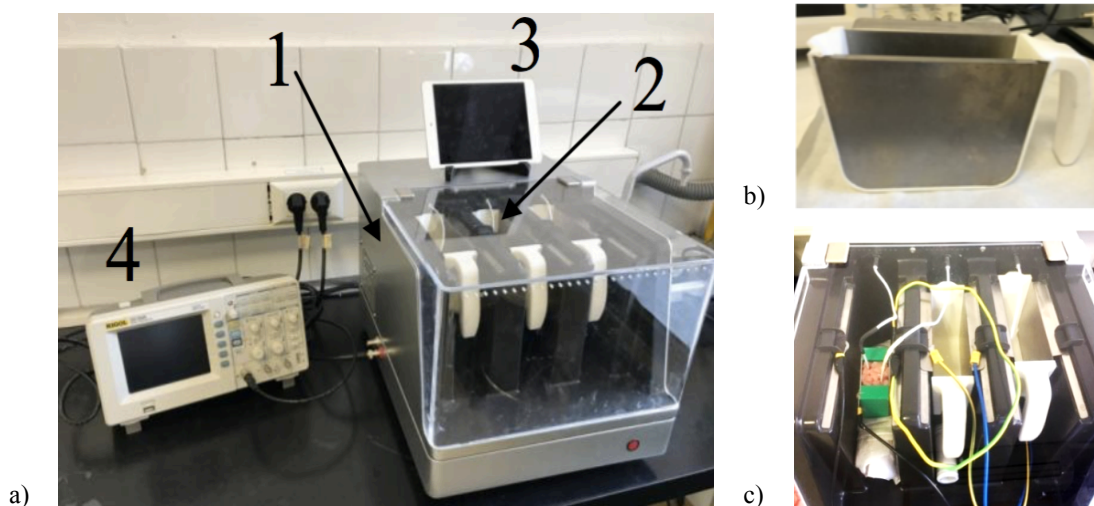


Figura 6. a) Equipo de PEAV Nutri-Pulse E-Cooker: (1) Generador de pulsos, (2) Zona de tratamiento, (3) Pantalla táctil, (4) Osciloscopio. b) Cámara de tratamiento de 4cm del equipo. c) Cámara de tratamiento de 3,4 cm de separación de los electrodos.

3.3. Obtención y modelización de las curvas de deshidratación

Previamente a obtener las curvas de deshidratación, se evaluó el efecto en la velocidad de deshidratación de los parámetros PEAV dependiendo de la dirección de las fibras musculares con respecto al campo eléctrico aplicado, así como del tamaño de las piezas de carne tratadas por PEAV. Dependiendo del estudio realizado y que se indicará en la sección de Resultados y Discusión, la carne se cortó en distintas direcciones y tamaños. Para realizar el estudio de la influencia de la orientación de las fibras con respecto a la dirección del campo eléctrico en la deshidratación de la carne, se cortaron cilindros de 2x2cm según dos direcciones de las fibras (Figura 7): en paralelo al campo eléctrico aplicado (a) y en perpendicular (b).

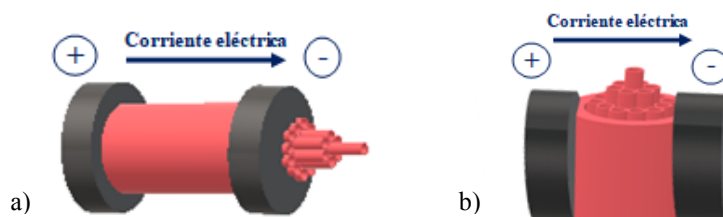


Figura 7. a) Representación esquemática de una muestra de carne cuyas fibras están dispuestas de forma paralela al campo eléctrico aplicado. b) Representación de una muestra de carne cuya orientación de fibras es perpendicular.

Para evaluar la influencia del tamaño de corte en la deshidratación, se trataron trozos de carne de 3,1x3,1x4,9cm que posteriormente, se cortaron en distintos tamaños (Figura 8) que se deshidrataron de forma individual. En la Tabla 2 se muestra las dimensiones de las muestras según el tamaño de corte.

Tabla 2. Dimensiones de las muestras según el tamaño de corte.

| Muestra | Largo (cm) | Ancho (cm) | Alto (cm) | Superficie (cm ²) | Volumen (cm ³) | Sup/vol (cm ⁻¹) |
|----------|------------|------------|-----------|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 1 trozo | 1,55 | 1,55 | 2,45 | 20,00 | 5,89 | 3,40 |
| 2 trozos | 0,78 | 1,55 | 2,45 | 13,80 | 2,94 | 4,69 |
| 4 trozos | 0,78 | 1,55 | 1,23 | 8,10 | 1,47 | 5,50 |
| 8 tozos | 0,78 | 0,78 | 1,23 | 5,00 | 0,74 | 6,79 |



Figura 8. Aspecto de los distintos tamaños utilizados en los tratamientos PEAV y posterior deshidratación según la relación superficie/volumen (cm⁻¹): (a) 3,40; (b) 4,69; (c) 5,50; (d) 6,79.

Finalmente, para el estudio de la influencia del tamaño de picado en la deshidratación de la carne picada se utilizó la picadora Meatgrinder Q.5152 (Qilive, China), obteniéndose tres tamaños de picado: 2,5, 4,0 y 6,8 mm con una relación superficie/volumen de 2,4, 1,5 y 0,8, respectivamente (Figura 9).

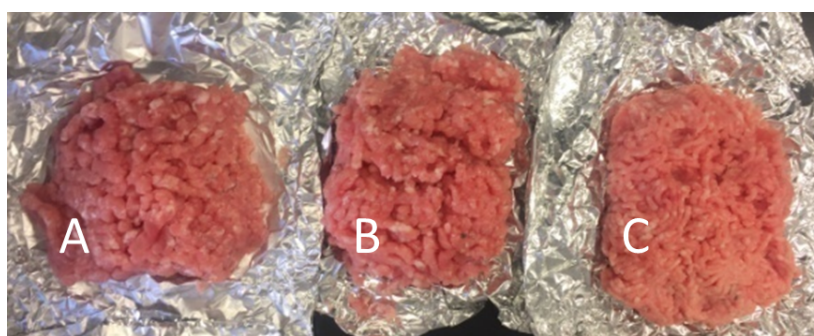


Figura 9. Aspecto de los distintos tamaños de picado: (a) 6,8 mm; (b) 4,0 mm; (c) 2,5 mm.

3.3.1. Curvas de deshidratación

Como ya se ha indicado, la carne cortada en los distintos tamaños y direcciones de fibra se introducía en la cámara de tratamiento PEAV anteriormente descrita asegurando un perfecto contacto de la misma con los electrodos de la cámara. Tras los correspondientes tratamientos de pulsos eléctricos, se realizaba el proceso de deshidratación. Para ello, los trozos de carne se envolvían en una gasa y se colgaban mediante un gancho en el interior de un recipiente de plástico para conseguir que las condiciones de deshidratación fuesen lo más uniformes para todas las muestras. En un estudio previo (datos no mostrados), se

detectó una variación en la temperatura y velocidad del aire de la cámara de deshidratación. El recipiente con las muestras se introducía en cámaras a distintas temperaturas (4 y 30°C).

Para construir las curvas de deshidratación, las muestras se fueron pesando a lo largo del tiempo y se determinó la pérdida de peso para cada tiempo. Con los resultados obtenidos se elaboraron curvas de deshidratación representando en el eje de abscisas el tiempo de secado en horas y en el eje de ordenadas los gramos perdidos/100 gramos de peso inicial.

3.3.2. Descripción de las curvas de deshidratación mediante modelos matemáticos

Para la descripción de las curvas de deshidratación, se eligieron dos modelos: el basado en la ecuación de Fick (Vorobiev y Lebovka, 2006) (Ecuación 4) que describe matemáticamente procesos de difusión de materia; y el de Geeraerd, Herremans, y Van Impe (2000) (Ecuación 5) que describe gráficas asintóticas descendentes y que generalmente se utiliza para describir la cinética microbiana (Gouma et al., 2015).

$$Y = X_e + (X_i - X_e)e^{(-k \cdot t)} \quad (\text{Ec. 4})$$

$$Y = \log_{10} \left((10^{X_i} - 10^{X_e})e^{(-k_{max} \cdot t)} + 10^{X_e} \right) \quad (\text{Ec. 5})$$

donde Y es el peso a lo largo del tiempo (g); X_i es el peso inicial (en %); t es el tiempo de secado (h); X_e es el peso de la muestra tras un tiempo infinito de deshidratación (%); y k o k_{max} es una constante que representa la velocidad de deshidratación (h^{-1}). El valor X_e se calculó mediante el promedio de los valores de todas las muestras y como los resultados se han presentado en tanto por ciento, el valor X_i en todos los casos era de 100%.

El ajuste de los modelos a los valores de las gráficas de deshidratación obtenidos experimentalmente se realizó mediante mínimos cuadrados con la herramienta Solver del programa Excel 5.0 (Microsoft, Seattle, Washington, EE.UU.) y con el programa GraphPad PRISM[®] (GraphPAD Software, Inc., San Diego, California, EE.UU.).

3.4. Proceso de fabricación de longanizas

En primer lugar, los 7 kg de paleta y los 3 kg de panceta se cortaron en trozos para posteriormente ser picados a un tamaño de grano de 8 mm mediante una picadora (M-94-32, GESAME Barcelona, España). La masa obtenida se introdujo en la amasadora a vacío (Amasadora AVT-50, Castellvall, Girona, España) con el resto de ingredientes con objeto de conseguir una masa homogéneamente mezclada. La mezcla se amasó durante 2-3 minutos, utilizando vacío a una temperatura que no superó los 12 °C. Posteriormente, se aplicó el tratamiento de PEAV a la masa cárnica picada. Paralelamente, se prepararon las tripas naturales de cerdo (Gracia Goez S.C) para realizar la embutición. Para ello, se

sumergieron entre 12-24 h en agua de red acidificada a pH 4,0 con ácido cítrico (Panreac, Abrera, España) y a una temperatura 3 °C. Tras ello, se introdujeron en agua tibia a 25-35 °C entre 20-30 min para eliminar los restos de sal y ácido cítrico y que recuperasen la elasticidad necesaria para embutir. El embutido se realizó en una embutidora (EM-30, MAINCA Barcelona, España), preparando longanizas de 34-36mm de diámetro y de 40-50cm de longitud, aproximadamente. Las longanizas resultantes se ataron de los dos extremos, se sumergieron en una solución de sorbato potásico al 5% y se colgaron en perchas para su secado que consistió en dos etapas: los 7 primeros días fueron almacenadas a 4 °C y 90 % de humedad relativa. Posteriormente, la temperatura se incrementó de 12 a 18 °C mientras la humedad relativa de la cámara se redujo desde el 85 al 75 % (Vidal, 1997) (Ver Anexo I).

3.5. Determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos

En los estudios relativos a las curvas de deshidratación de la carne y cuando se indica, se evaluó en la carne la humedad, la capacidad de retención de agua, además de la pérdida de peso a lo largo del tiempo de deshidratación. En los estudios de validación, además, se determinó el pH, a_w y la textura de las longanizas preparadas.

3.5.1. Humedad

Se pesaron por duplicado 10 gr de muestra y se introdujeron en una estufa a 105 °C durante 24 h (Braña et al, 2011). El contenido de humedad se calculó utilizando la Ecuación 6.

$$\% \text{ de humedad} = \frac{P_i - (P_f - P_p)}{P_i} \cdot 100 \quad (\text{Ec. 6})$$

donde P_i es el peso inicial de la muestra en gramos, P_f es el peso final de la muestra más el platillo (en gramos) y P_p es el peso en gramos del platillo.

3.5.2. Capacidad de Retención de Agua (CRA)

Este parámetro se analizó siguiendo dos métodos: mediante una técnica basada en la centrifugación en el caso de la carne fresca y mediante la medida del “cook-loss” en las longanizas, ambas con ligeras modificaciones.

La primera técnica, basada en la centrifugación, consistió en la medida de la pérdida de peso de la carne tras ser sometida a una centrifugación. Para ello se prepararon muestras de 5-6 g que se envolvieron en gasa estéril y se introdujeron en un tubo Falcon con perlas de vidrio. Estos tubos se sometieron a una centrifugación a 1300 rpm durante 15 min en

una centrifuga (MEGAFUGE 1.0 R, Kendro, Alemania) y la carne se volvió a pesar tras la centrifugación (Trout, 1988).

Para las longanizas, se determinó la pérdida de peso tras cocinado o “cook-loss”. Para ello se pesaron muestras de 2 g que se introdujeron en tubos de ensayo y se sumergieron en agua hirviendo durante 30 min. Posteriormente, se recuperaron las porciones de longaniza, se eliminó el agua superficial con papel y se volvieron a pesar (Honikel, 1998). En ambos casos, para calcular la CRA se utilizó la ecuación 7.

$$CRA = 100 - \left(\frac{P_i - P_f}{P_i} \cdot 100 \right) \quad (\text{Ec. 7})$$

donde P_i es el peso inicial en gramos y P_f es el peso final de la muestra en gramos. Se realizó por triplicado para cada muestra.

3.5.3. Determinación del pH

Se emplearon dos métodos distintos: por un lado, se utilizó el pH-metro de punción (Elektrode PHEE-112-S, ProMinent GmbH, Heidelberg, Alemania) para las longanizas y carne fresca, y el método de homogeneización para la mezcla de carne picada empleada en la elaboración de longanizas. Esta última se llevó a cabo tras homogeneizar en un tubo Falcon 2 gr de muestra con 18 ml de agua que mediante un Ultraturax (IKA-WERKE, T 25 basic, Staufen, Alemania) utilizando un pH-metro (BASIC 20+, CRISON, Barcelona, España) para medir el pH de la suspensión resultante (Moreno, 2003).

3.5.4. Determinación de la actividad de agua (a_w)

Cinco gramos de muestra se introdujeron en un sistema de determinación de a_w (Aqualab 4TEV, Decagon devices, Washington, EE.UU.) basado en el punto de rocío con compensación de temperatura siguiendo las instrucciones del fabricante.

3.5.5. Análisis microbiológicos

A lo largo del curado de las longanizas, se tomaban 25 gramos de muestra que se introducían en bolsas de Stomacher (VWR, Inglaterra) con 225 mL de agua de peptona tamponada. Tras 30 segundos de homogeneización a 230 rpm, se preparaban las diluciones y se adicionaba 0,1 mL en la superficie de placas de Petri con el correspondiente medio de cultivo según el microorganismo investigado. Los grupos microbianos estudiados fueron aerobios mesófilos totales (UNE-EN ISO 4833-2:2013), enterobacterias (UNE-EN ISO 21528-2:2017 (modificada)), bacterias ácido-lácticas por siembra en superficie en Caldo Elliker más Agar Técnico (Oxoid Microbiology Products, Reino Unido) e incubación a 37°C/24h y *Staphylococcus* spp por siembra en superficie

en Agar Manito Sal (Oxoid Microbiology Products, Reino Unido) más yema de huevo (proporción 1/20) e incubación a 37°C/24h.

3.5.6. Análisis de textura

Con objeto de obtener una medida instrumental de la dureza de las longanizas, se realizó un test de corte por cizalla con la sonda "Warner-Bratzler". Es una medición objetiva que da un valor de terneza de manera cuantitativa, midiendo la resistencia que opone la carne a ser cortada, la cual se expresa como "fuerza de corte" en kilogramos-fuerza (kgf). Para ello, se cortaron cilindros de longaniza de 0,5 cm de grosor que se colocaron en la célula de corte Warner-Bratzler del texturómetro (TA.XT2i TextureAnalyser, Anname, Madrid, España). El programa Texture Expert proporciona la fuerza de corte y un gráfico en el que se ve cómo va variando ésta a lo largo del corte. Los parámetros de ensayo utilizados fueron "compresión" para el modo de ensayo; 2,00 mm/seg de velocidad de pre-ensayo; 10,00 mm/seg velocidad de post-ensayo; 10,0 g de fuerza de activación.

3.6. Tratamiento estadístico de los datos

En relación a la descripción de las curvas de deshidratación de la carne tratada o no por PEAV y con el fin de evaluar la bondad de los ajustes de los modelos matemáticos utilizados, se determinaron los coeficientes de determinación (R^2), el error cuadrático medio (ECM) (en inglés, *RMSE Root Mean Square Error*) entre los valores experimentales y los obtenidos con los modelos (Buzrul y Alpas, 2004). El valor R^2 informa sobre la proporción de la variabilidad total que explica el modelo elegido y el ECM puede considerarse como el promedio de la discrepancia entre los valores observados y los estimados por el modelo. Un valor de ECM igual a 0 indica que existe un perfecto acuerdo entre los valores predichos y los obtenidos experimentalmente. Además, para definir el modelo más adecuado, también se representaron gráficamente los valores experimentales frente a los obtenidos con el modelo y se calcularon los factores B_f y A_f (Ross, 1996). El factor B_f indica el grado en el que el modelo sobreestima ($B_f > 1$) o subestima ($B_f < 1$) los datos observados. Un valor de B_f igual a 1 indica que existe un perfecto acuerdo entre los valores predichos y los observados experimentalmente. El factor A_f cuantifica las diferencias entre los valores predichos y los observados. Un valor de A_f igual a 1 indica que existe un perfecto acuerdo entre los valores predichos y los observados experimentalmente. Cuanto más alejado de 1 se encuentre en mayor medida diferirán las predicciones de los datos observados.

El cálculo de estos parámetros: R^2 , ECM, factor B_f y factor A_f se realizó con los programas Excel 5.0 (Microsoft) y GraphPad PRISM[®] (GraphPad Software).

Con el fin de estudiar si existían diferencias significativas entre los parámetros calculados en los diferentes estudios, se utilizaron los test de Análisis de Varianza (*one-way ANOVA* con el post-test *Tukey*) cuando el número de muestras a comparar era superior a 2 y, para analizar datos de dos muestras diferentes se utilizó el test *t* de Student. Para ello se utilizó el programa GraphPad PRISM[®] (GraphPad Software). Las barras de error se corresponden con la desviación estándar de la media y la existencia de diferencias estadísticamente significativas se determinó para un valor *p* de 0,05, indicando en las gráficas dichas diferencias con letras distintas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se ha descrito, el objetivo principal de este trabajo fue evaluar el efecto que la aplicación de tratamientos PEAV a la carne tendría en la elaboración de productos crudos-curados (longaniza), prestando, por ello, especial atención al proceso de secado. No obstante, dada la escasa información existente al respecto no se pudo abordar directamente este estudio por lo que se realizó una etapa previa centrada en el estudio de aspectos más básicos en la que se trató de: 1) evaluar la influencia de diferentes parámetros de los tratamientos PEAV en su capacidad para permeabilizar las células musculares y para, así, acelerar la deshidratación del tejido muscular, y 2) determinar la influencia del tamaño de corte y/o picado en la velocidad de deshidratación de la carne tratada por PEAV. A partir de estos estudios se determinaron unas condiciones óptimas de tratamiento por PEAV que, en la segunda parte del estudio, se trataron de validar mediante la elaboración de longanizas con carne tratada o no por PEAV a nivel planta piloto.

4.1. Estudio de la aplicación de los PEAV en la deshidratación de carne.

Dentro de este apartado, se han llevado a cabo varios estudios. En una primera parte comprobar el efecto de los PEAV en la permeabilización de las células musculares, para posteriormente evaluar la influencia de distintos factores dependientes de los PEAV (intensidad del campo eléctrico, anchura de los pulsos, energía aplicada, etc.) y ambientales (temperatura de deshidratación, tamaño de las muestras y dirección de las fibras musculares respecto al campo eléctrico) en la velocidad de deshidratación de la carne.

4.1.1. Capacidad de los PEAV para permeabilizar las células musculares.

Como ya se ha indicado, la aplicación de PEAV provoca la electroporación de las células y facilita la salida de compuestos de su interior. No obstante, debido a la casi completa ausencia de bibliografía acerca de la aplicación de esta nueva tecnología en los productos cárnicos, se realizó un estudio inicial para comprobar dicho efecto. Para ello, muestras de lomo de cerdo se trataron a distintas intensidades de campo eléctrico utilizando el equipo ScandiNova 6 MW. Como indicadores de la permeabilización celular se utilizaron la medida de la CRA (que debería disminuir si las células resultaban permeabilizadas) y la medida de la pérdida de peso por deshidratación en una cámara a 4°C (que debería ser mayor -o más rápida- si la permeabilización había sido efectiva). La CRA está íntimamente relacionada con el agua inmovilizada en los tejidos. En el caso del tejido muscular y más concretamente del sistema miofibrilar, una notable parte del agua está localizada en los filamentos gruesos y entre los filamentos gruesos y finos de las miofibrillas.

La Figura 10 muestra la CRA de las muestras tratadas a diferentes intensidades de campo eléctrico. Como se observa, al aumentar el campo eléctrico la CRA disminuye, indicando que los PEAV producen la permeabilización de las células, facilitando la salida del agua.

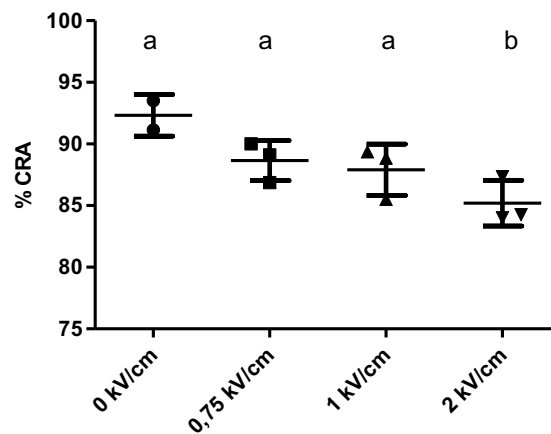


Figura 10. Influencia de la intensidad del campo eléctrico en la CRA de carne de cerdo.

En paralelo, también se estudió el proceso de desecación de las muestras tratadas bajo las mismas condiciones. En la Figura 11, se muestra la pérdida de agua (en %) de las diferentes muestras en dos períodos de tiempo pre-determinados (tras 25 y 166 h a 4°C).

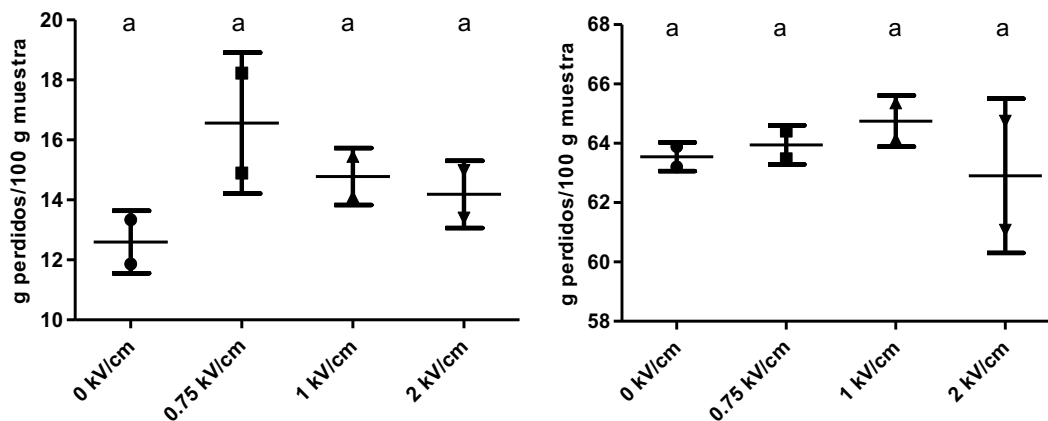


Figura 11. Influencia de la intensidad del campo eléctrico en la pérdida de agua tras 25,5h (izquierda) y 166,5h (derecha) a 4°C.

En estas gráficas se observa que a pesar de que el aumento del campo eléctrico produce una mayor permeabilización de las células, la pérdida de agua no aumenta significativamente, aunque sí parece apreciarse cierta tendencia que indica que las muestras tratadas por PEAV se deshidratarían más rápidamente sobre todo en los primeros momentos de la deshidratación. Esto podría ser debido a que además de agua, los PEAV favorecerían la salida de otros compuestos solubles como pueden ser proteínas miofibrilares, que podrían conducir a la formación de una costra en la superficie de deshidratación que limitaría la evaporación del agua del interior de la muestra. Este es un aspecto que resultaría interesante investigar en un futuro.

En resumen, estos resultados indicaban claramente que los PEAV eran capaces de permeabilizar las células musculares. Sin embargo, su capacidad para acelerar la deshidratación de la carne no quedaba del todo clara. Por ello, se diseñaron una serie de ensayos con objeto de tratar de clarificar este punto.

4.1.2. Influencia de la temperatura de secado en la velocidad de deshidratación

El principal objetivo de esta parte del estudio fue tratar de acortar los tiempos de deshidratación para así evitar estudios muy prolongados en el tiempo. Para ello, se probó a deshidratar a mayor temperatura, concretamente a 30 °C tras la aplicación de tratamientos a campos eléctricos de 1 a 5 kV/cm y anchuras de pulso de 10 a 100 μ s utilizando el equipo EPULSUS y la cámara de tratamiento cilíndrica de 2x2 cm. Los resultados de este ensayo se muestran en la Figura 12a. Con el fin de establecer comparaciones, los resultados obtenidos para muestras sometidas al mismo tratamiento, pero deshidratadas a 4 °C se muestran en la Figura 12b. Como puede observarse para un mismo tiempo (2h) de secado las muestras deshidratadas a 30 °C presentaron una pérdida

de peso del 15-25% mientras que las deshidratadas a 4 °C habían perdido un 8-10%. Es decir, a 30°C la pérdida de peso se produce de forma muy rápida y con mucha variabilidad en los resultados dificultando el control del proceso. Por ello, se descartó el uso del secado a 30 °C y en el resto de estudios la deshidratación se realizó a 4 °C para permitir un mejor control y precisión de los resultados, además de mantenerse la tendencia en el tiempo observando efectos similares de los PEAV a las 24 h (resultados no mostrados) en comparación a lo determinado a las 2 h a 4 °C.

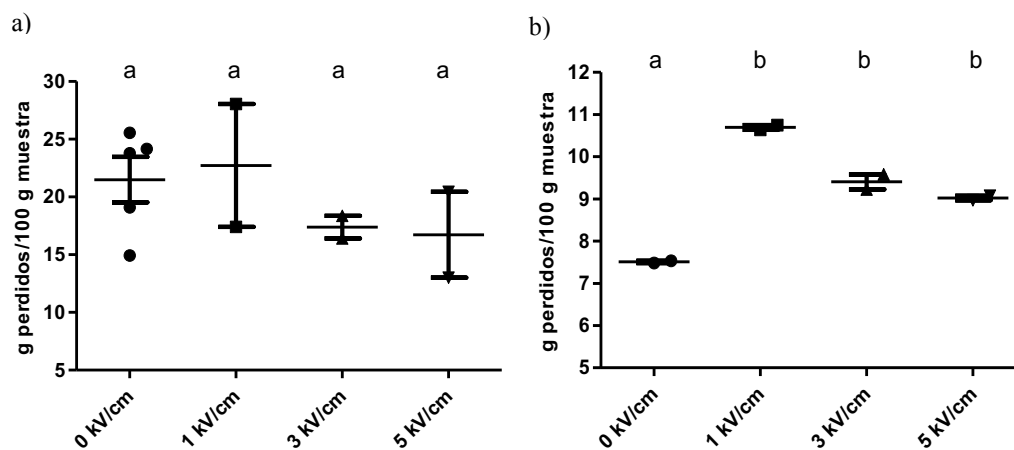


Figura 12. Influencia de la intensidad del campo eléctrico en la pérdida de agua a de muestras deshidratadas durante 2 h a 30°C (a) y 4 °C (b).

Una vez establecida la temperatura de deshidratación, se llevaron a cabo una serie de ensayos para determinar las condiciones óptimas de tratamiento de la carne de cerdo. Así, se investigó la influencia de orientación de las fibras musculares en relación al campo eléctrico, del campo eléctrico, de la anchura de pulso y de la energía aplicada.

4.1.3. Influencia de los parámetros PEAV en la deshidratación de la carne

Es bien conocido que el impacto de los PEAV en los procesos de transferencia de masa depende de los parámetros básicos del tratamiento como son la intensidad de campo eléctrico, la frecuencia y el número de pulsos, siendo el campo eléctrico el más importante (Alahakoon et al., 2016). El estudio de estos factores es muy relevante ya que en todos los casos existe un valor umbral para estos parámetros, por debajo del cual no se observan efectos, y uno óptimo al que el efecto es máximo, hechos que podrían explicar los datos no concluyentes en el experimento inicial. Adicionalmente, hay otros factores, dependientes del alimento a tratar, que podrían condicionar el proceso. En el caso de la carne, podría tener una influencia especialmente relevante la orientación de las fibras musculares.

Así pues, una vez establecidas las condiciones de deshidratación, se llevaron a cabo una serie de ensayos para determinar las condiciones óptimas de tratamientos PEAV de la carne de cerdo que maximizaran su velocidad de deshidratación. Para ello, se utilizó el equipo EPULSUS y la cámara de tratamiento de 2x2 cm y se investigó la influencia de la orientación de las fibras musculares al paso de la corriente eléctrica, del campo eléctrico, de la anchura de los pulsos y de la energía aplicada.

Se comenzó estudiando la influencia de la orientación de las fibras musculares para lo que se aplicaron tratamientos de 0,75 a 3 kV/cm, de 100 y 200 μ s y energías de 28 kJ/kg a muestras cuyas fibras se encontraban paralelas y perpendiculares al campo eléctrico aplicado. La Figura 13 presenta la influencia de la orientación de las fibras en el porcentaje de deshidratación (2 h a 4 °C) de las muestras de carne tratadas a distintos campos eléctricos. Se han señalado diferencias estadísticamente significativas ($p=0,05$) con letras para un mismo campo eléctrico entre las muestras en las que las fibras están orientadas en paralelo y en perpendicular y con asterisco entre las muestras tratadas con PEAV a distintos campos eléctricos y la control para una misma orientación.

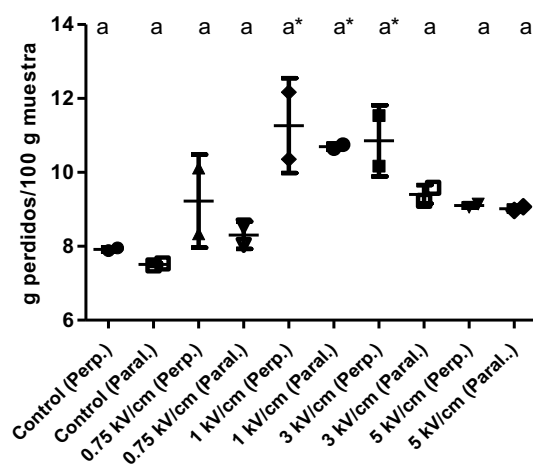


Figura 13. Influencia de la orientación de las fibras (perpendicular o paralelo) respecto a la dirección del campo eléctrico en muestras de carne de cerdo tratadas por PEAV tras 2 h de deshidratación a 4 °C.

Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras pulsadas en perpendicular y en paralelo, el valor de deshidratación promedio de las muestras perpendiculares se encontró siempre por encima de las muestras en paralelo. En este sentido, hay que señalar que si se considera que la célula es como un condensador esférico, se puede calcular el potencial transmembrana generado por un campo eléctrico externo según la siguiente fórmula (Ecuación 8):

$$U_m = 1.5 \cdot r \cdot E \cdot \cos \theta \cdot \left(1 - e^{\left(-\frac{t}{\tau}\right)}\right) \quad (\text{Ec. 8})$$

dónde la r es el radio de la célula, E es el campo eléctrico externo aplicado, θ es el ángulo entre la membrana y la dirección del campo eléctrico, t es el tiempo, y τ es el tiempo de capacitancia de la membrana (Teissié, et al., 2002). De esta ecuación, se puede deducir que el potencial transmembrana necesario para la electroporación de la célula depende de la dirección del campo eléctrico con respecto a la posición de las células. Así, si la dirección del campo eléctrico es perpendicular a las células, el ángulo formado será de 90° y el potencial transmembrana necesario será menor lo que podría justificar que las muestras tratadas en dirección perpendicular al campo eléctrico alcanzarán pérdidas de peso mayores ya que se habría producido una mayor electroporación celular al aplicar el mismo campo eléctrico.

Con el fin de evaluar la influencia del campo eléctrico en la deshidratación, se aplicaron tratamientos (anchuras de pulso de $200 \mu\text{s}$ y energía total aplicada de 28 kJ/kg) a $0,75$, $1,00$, $1,50$ y $2,00 \text{ kV/cm}$, ya que anteriormente (Figura 14) se observó que valores superiores a 3 kV/cm no mejoraban la deshidratación posterior (Figura 13). En este caso, se determinó un campo eléctrico óptimo a 1 kV/cm con el que se consiguió aumentar la pérdida de agua en un $60,4\%$. Una explicación razonable de este fenómeno es que con campos eléctricos inferiores no se conseguiría un nivel de permeabilización celular suficiente por lo que la pérdida de agua sería menor mientras que a campos eléctricos superiores, se produciría una salida mayor de contenido intracelular y, los compuestos solubles como las proteínas, formarían una costra en la superficie de deshidratación que dificultaría la evaporación del agua.

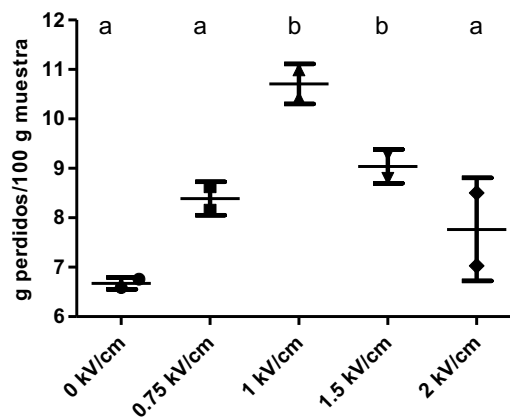


Figura 14. Influencia del campo eléctrico en la deshidratación de carne de cerdo tras 2 horas a 4°C .

Una vez establecido el campo eléctrico óptimo, se evaluó la influencia de la energía aplicada durante el tratamiento de PEAV, así como la anchura del pulso. En el caso de la energía, se estudiaron tres niveles de energía a 12,0, 28,0 y 56,0 kJ/kg aplicando diferente número de pulsos (11, 25 y 50) de 200 μ s, 1 kV/cm y con una energía por pulso de 1,12 kJ/pulso (Figura 15). Como se puede observar, el mayor nivel de deshidratación se observa tras la aplicación de 28,0 kJ/kg. En tratamientos superiores, como el tratamiento de 56,0 kJ/kg, las muestras no sólo se deshidrataron menos, sino que además presentaron un aspecto “cocido” debido a que se produjo un aumento de temperatura 20°C.

Para el estudio de la influencia de la anchura de pulso, se aplicaron tratamientos de PEAV de 200 μ s de duración total, 1 kV/cm y 28 kJ/kg pero aplicados en forma de pulsos de 50, 100 y 200 μ s (Figura 16). Aunque no se observaron diferencias significativas, sí que se puede observar que al aumentar la anchura de pulso se consiguió incrementar la pérdida de agua y, por tanto, una mayor electroporación celular alcanzando un óptimo con 200 μ s. Este efecto de la anchura de pulso en la electroporación celular, aunque no ha sido estudiado en profundidad, ya se había observado previamente en células procariotas (Wouters et al., 1999).

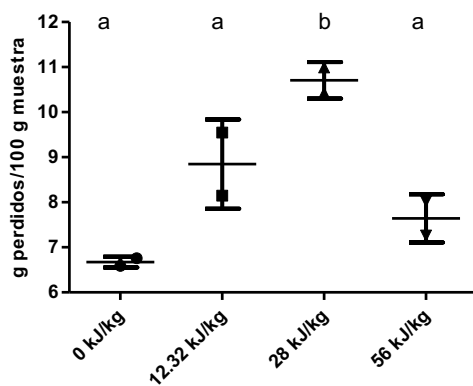


Figura 15. Influencia de la energía aplicada en la deshidratación (2 h a 4 °C) de muestras de carne de cerdo tratadas por PEAV (1 kV/cm, 200 μ s/pulso).

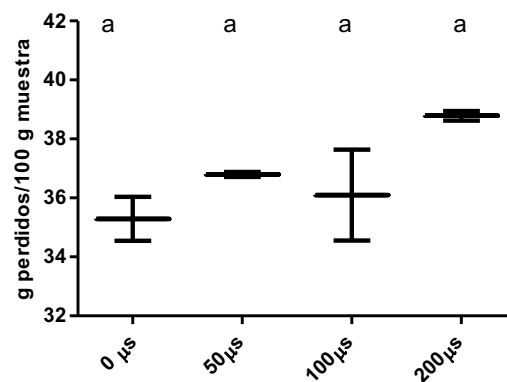


Figura 16. Influencia de la anchura de pulso en la deshidratación (16 a 4 °C) de muestras de carne tratadas por PEAV (1 kV/cm, 28 kJ/kg).

En conclusión de este apartado, las condiciones óptimas de tratamiento de PEAV para mejorar la deshidratación de las muestras de carne de cerdo serían: una orientación de fibras perpendicular con respecto a la dirección del campo eléctrico y un tratamiento de 1 kV/cm, 200 μ s y 28 kJ/kg.

4.1.4. Influencia de tamaño de muestra en la deshidratación de la carne

Tras optimizar las condiciones de tratamiento, se comenzó a estudiar la influencia del tamaño de corte en la velocidad de deshidratación de la carne, teniendo en cuenta, que el objetivo final de este trabajo es la fabricación de un embutido picado (longaniza) elaborado con carne tratada con PEAV. Para ello, se trataron (utilizando las condiciones previamente fijadas) trozos de carne de 3,1cmx3,1cmx4,9cm que posteriormente se cortaron en distintos tamaños y se llevaron a deshidratar de forma individual. La Figura 17 muestra las curvas de deshidratación obtenidas para cada uno de los trozos de carne. Como se observa, al cortar la muestra inicial en el tamaño de "4 trozos" (relación superficie/volumen de 5.5) y tratarla por pulsos se alcanzarían pérdidas de peso de hasta un 57% superiores para un mismo tiempo de secado 189h. Estos resultados indicarían que hay un tamaño óptimo para incrementar la velocidad de deshidratación al aplicar PEAV. Un aspecto a destacar también de estas gráficas es que, para la curva de 4 trozos, la deshidratación sigue siendo lineal, mientras que, en el resto de los datos, se comienza a observar una ralentización de la deshidratación tras 150 horas.

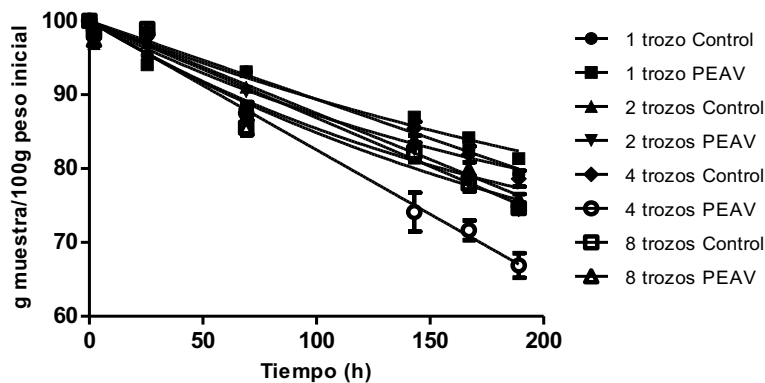


Figura 17. Influencia del tamaño del trozo de carne tratada y sin tratar por PEAV (1 kV/cm; 28 kJ/kg; 200 μ s/pulso) en su deshidratación a 4°C.

Con el fin de evaluar con mayor detalle estos resultados, en la Figura 18 de la izquierda se representa la pérdida de peso en relación al tamaño de muestra tras 168 horas de secado y en la de la derecha, los mismos datos, pero con la relación superficie/volumen de los mismos trozos de carne. En la Figura 18 de la izquierda, las letras indican diferencias significativas ($p=0,05$) entre las muestras control y pulsadas para un mismo tamaño de muestra y el asterisco, para los distintos tamaños de trozos entre muestras pulsadas y controles. En ambas figuras, se observa claramente que cuando la muestra se dividía en el tamaño de "4 trozos" se consiguen los mayores niveles de deshidratación, hasta un 10%, tras ser tratado con PEAV, y que se correspondía con una relación

superficie/volumen de $5,5 \text{ cm}^{-1}$. Además, y como se observa en la Figura 18 de la derecha, cabe destacar que mientras para las muestras control se observa una relación lineal entre la relación superficie/volumen y el grado de deshidratación, en las muestras PEAV tras alcanzarse un máximo posteriormente la deshidratación disminuye, lo que podría ser debido a que en aquellos casos en los que el nivel de ruptura celular sea muy alto el efecto de los pulsos se vería enmascarado.

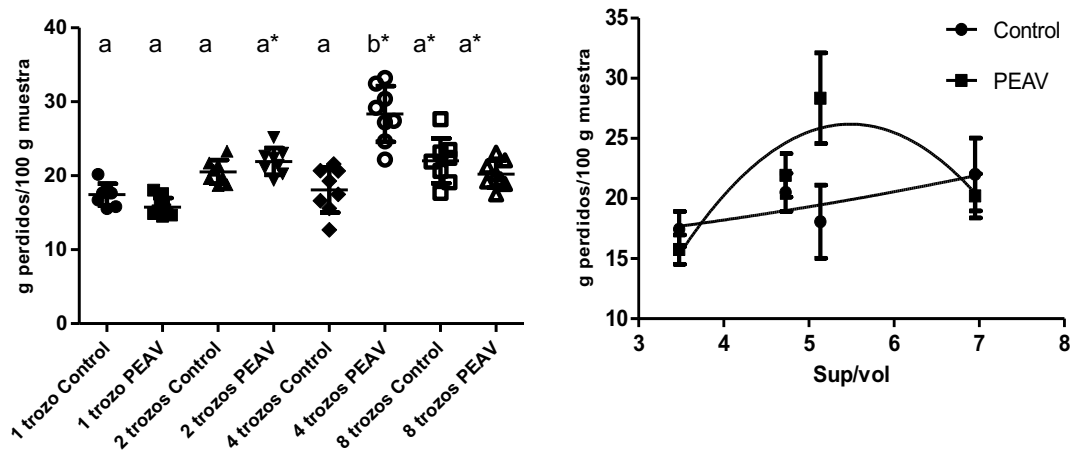


Figura 18. Influencia del tamaño del trozo de carne (izquierda) y de la relación superficie/volumen (derecha) en la deshidratación de muestras de carne tratadas y no tratadas con PEAV (1 kV/cm; 28 kJ/kg; 200 μ s/pulso) tras 7 días a 4 °C.

Finalmente, y para aproximar el modelo experimental todavía más a lo que es un embutido picado, se continuó realizando un estudio acerca de la influencia del picado a distintos tamaños (2,5, 4,0 y 6,8 mm) en la deshidratación de muestras de carne que fueron tratadas en el equipo EPULSUS. En este caso, la carne se envolvió en una gasa que es la que se colgó para deshidratar como se ha indicado en Material y Métodos. Los resultados se muestran en la Figura 19 tras 334 h de deshidratación a 4 °C en relación al tamaño de picado (izquierda) o a la relación superficie/volumen (derecha), donde las letras indican diferencias significativas ($p=0,05$) entre las muestras control y pulsadas para un mismo tamaño de picado, y el asterisco entre distintos tamaños de picado para muestras pulsadas y controles. De nuevo, se observó un tamaño de picado óptimo correspondiente a 4,0 mm con el que se determinaron pérdidas de peso de aproximadamente un 61%, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

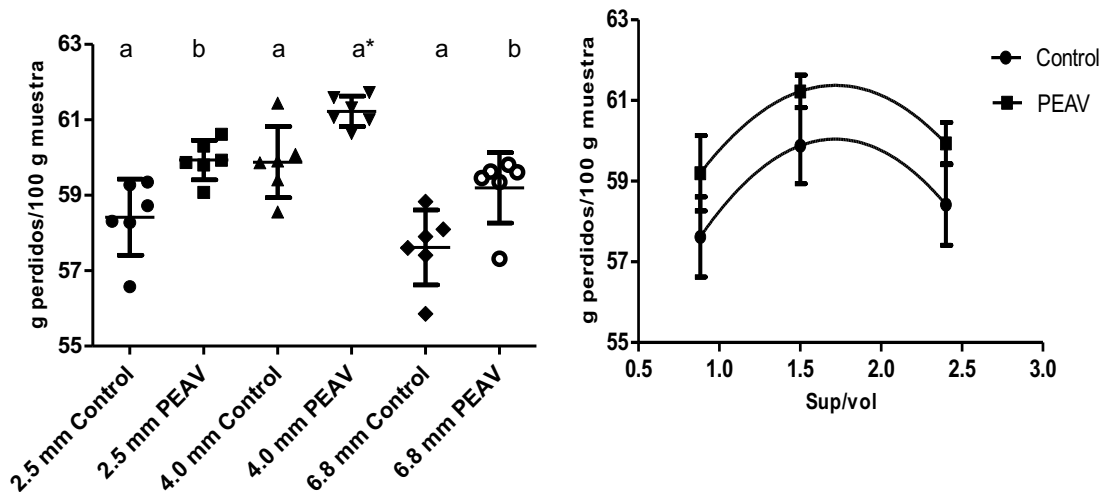


Figura 19. Influencia del tamaño de picado de la carne (izquierda) y de la relación superficie/volumen (derecha) en la deshidratación de muestras de carne tratadas y no tratadas con PEAV (1 kV/cm; 28 kJ/kg; 200 μ s/pulso) tras 334 h (14 días) a 4 °C.

Con el fin de estudiar la cinética completa del proceso de deshidratación de estas muestras, se obtuvieron las curvas de deshidratación a 4 °C para todas ellas como se observa en la Figura 20 (izquierda). Con el fin de mostrar con mayor detalle las diferencias en las curvas, la Figura 20 de la izquierda se ha representado a partir de las 200 h de deshidratación (Figura 20 derecha). Se puede apreciar que la pérdida de agua fue lineal hasta las 270 h aproximadamente, a partir de donde la deshidratación se fue ralentizando, alcanzando una pérdida máxima de agua de alrededor del 60%.

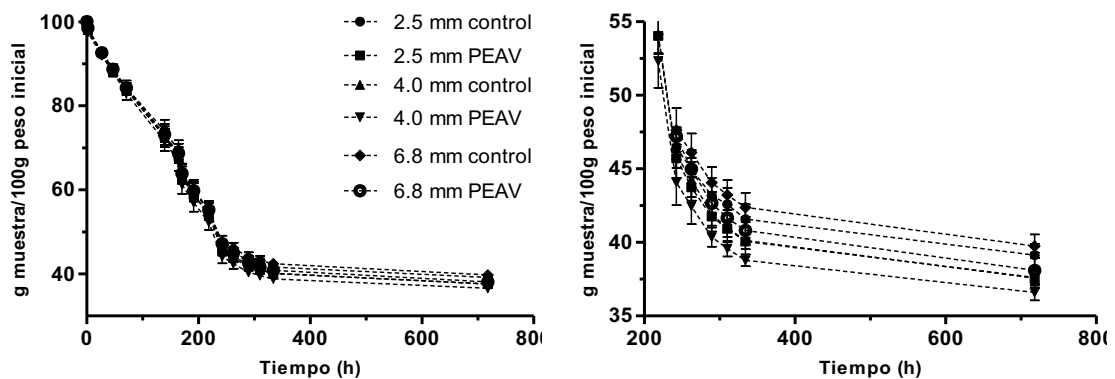


Figura 20. Influencia del tamaño de picado de la carne tratada o no por PEAV (1 kV/cm; 28 kJ/kg; 200 μ s/pulso) en las curvas de deshidratación a 4 °C. La figura de la derecha muestra un detalle de la de la izquierda a partir de las 200 h de deshidratación.

Las curvas de deshidratación de la Figura 20 fueron descritas en base a dos modelos matemáticos: el de Fick (Ecuación 4) y el de Geeraerd, Herremans y Van Impe (2000) (Ecuación 5) como se ha descrito en la sección de Material y Métodos (ver Anexo 2).

Ambos modelos describen con precisión las curvas mostradas en la Figura 20 (Anexo 2); sin embargo, el de Geeraerd, Herremans y Van Impe fue el que mejores valores de R^2 , ECM, B_f y A_f permitió obtener (Anexo 3). Es por ello que se utilizó este modelo para describir las curvas, obteniéndose para cada tamaño de picado y tratamiento PEAV y no PEAV un valor de k (velocidad de deshidratación) como se muestra en la Figura 21. A partir de esta relación entre el tamaño de picado, tratamiento PEAV y k se obtuvieron las siguientes ecuaciones (modelos secundarios) que permiten determinar con facilidad la influencia del tamaño de picado en la velocidad de deshidratación:

$$\text{Control: } k = -0.002611 \cdot P^2 + 0.024558 \cdot P + 0.433068 \quad (\text{Ec. 9})$$

$$\text{PEAV: } k = -0.005464 \cdot P^2 + 0.047537 \cdot P + 0.406299 \quad (\text{Ec. 10})$$

donde k es la velocidad de deshidratación (g/h) y P es el tamaño de picado (mm).

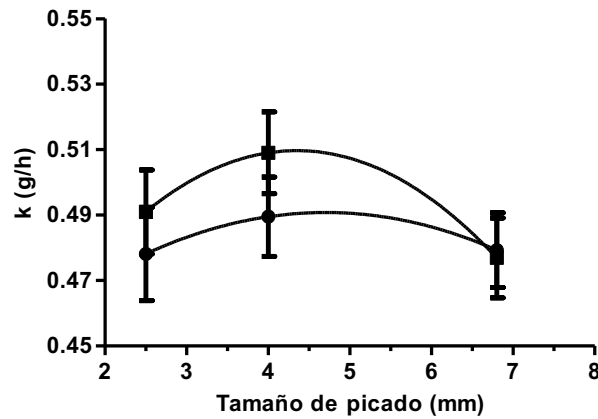


Figura 21. Influencia del tamaño de picado en la velocidad de deshidratación, parámetro k , de la carne de cerdo tratada o no por PEAV (1 kV/cm; 200 μ s; 28 kJ/kg) (■) y sin tratar (●).

Como se puede observar, el tamaño de picado de 4 mm para las muestras tratadas con PEAV conduciría a velocidades de deshidratación un 4% superior a las muestras sin pulsar del mismo tamaño de picado, alcanzando mayores pérdidas de agua.

Tras incorporar los modelos secundarios a las ecuaciones originales, se obtuvieron las siguientes ecuaciones que describen el proceso de deshidratación para la carne control y tratada por PEAV para tamaños de picado entre 2,5 y 6,8 mm:

Control (Ec. 11):

$$Y = \log_{10} \left((10^{100} - 10^{41.356}) e^{((0.002611 \cdot P^2 - 0.024558 \cdot P - 0.433068) \cdot t)} + 10^{41.356} \right)$$

PEAV (Ec. 12):

$$Y = \log_{10} \left((10^{100} - 10^{39.859}) e^{((0.005464 \cdot P^2 - 0.047537 \cdot P - 0.406299) \cdot t)} + 10^{39.859} \right)$$

dónde Y es el % de pérdida de peso, P es el tamaño de picado en mm y t es el tiempo de deshidratación en horas. Los valores de peso final (X_e) promedio observados para el control fue de 41,4% y para los PEAV de 39,9% consiguiéndose una deshidratación de un 3,6% mayor al aplicar los PEAV. En base a esta ecuación, se pueden optimizar condiciones de secado y tamaño de picado. Por ejemplo, la Figura 22 muestra la pérdida de agua alcanzada para un tiempo determinado, 200 h, para distintos tamaños de picado. Así se observa que se obtendría una pérdida máxima de 55,7% con un tamaño de 4,3 mm en las muestras tratadas con PEAV. A partir de uno 6,8 mm no se conseguirían ventajas en la deshidratación al aplicar PEAV.

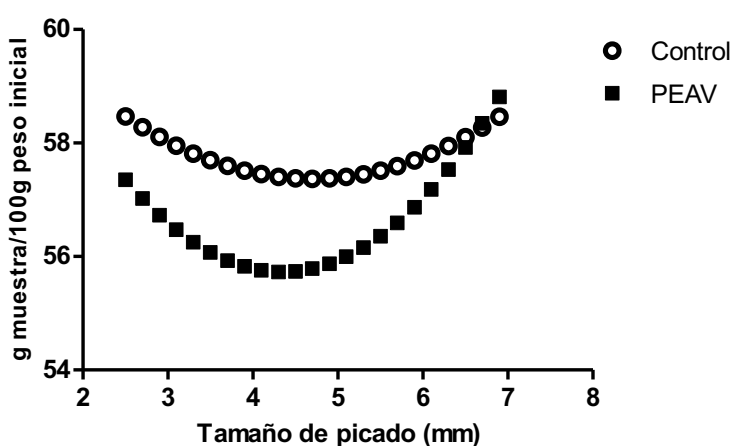


Figura 22. Simulación de la pérdida de peso de muestras de distintos tamaños de picado aplicando o no PEAV tras 200 h de deshidratación a 4 °C en base a las ecuaciones desarrolladas (11 y 12).

4.2. Efecto de los PEAV en la elaboración de longaniza

Tras determinar las condiciones óptimas de tratamiento y evaluar la influencia del tamaño de picado, se trató de validar los resultados obtenidos mediante la elaboración de un embutido picado crudo-curado como la longaniza con carne tratada por PEAV (y su comparación con la elaborada con carne sin tratar). Para ello, en un primer ensayo, se aplicó un tratamiento de PEAV con el equipo EPULSUS a una mezcla de carne picada formada por carne magra y grasa cuya conductividad eléctrica era de 15 mS/cm. Al presentar un valor tan alto de conductividad eléctrica, y debido a las limitaciones del equipo, el campo eléctrico máximo que se pudo aplicar fue de 0,6 kV/cm. El proceso de secado se monitorizó a lo largo del tiempo, pero no se observaron diferencias en la pérdida de peso entre las longanizas tratadas por PEAV y las control, como se muestra en la Figura 23. Estos resultados podrían ser debidos a que el estudio no se realizó en las condiciones “óptimas” determinadas en los estudios previos, ya que el tamaño de picado

fue de 8 mm siendo el tamaño óptimo de 4 mm y el campo eléctrico aplicado fue un 40% inferior. Además, la carne magra se pulsó junto a la grasa lo que pudo haber influido en el campo eléctrico aplicado al presentar la parte grasa una baja conductividad eléctrica - lo que puede producir una caída de tensión y consecuentemente, una disminución de la fuerza del campo eléctrico aplicado (Alahakoon, 2016).

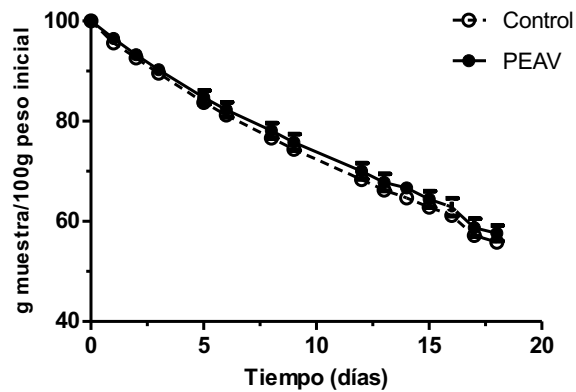


Figura 23. Curva de deshidratación de longaniza obtenida a partir de carne tratada o no por PEAV.

Una vez completado el proceso de secado, se realizó también una determinación instrumental de la textura y un análisis sensorial. El análisis sensorial consistió en dos pruebas triangulares en las que se preguntó a los participantes cuál de las tres muestras era la diferente. El 50,0% de los participantes acertaron, pero el resultado no fue significativo ($p=0,05$). Destacar que la mayoría de ellos señalaron que la longaniza PEAV les había resultado más jugosa. Por otra parte, cabe destacar que el test de textura realizado utilizando la célula Warner-Bratzler indicó que la longaniza elaborada con carne tratada por PEAV presentó una resistencia al corte por cizalla inferior en un 18% a la fabricada con carne sin tratar, como se representa en la Figura 24.

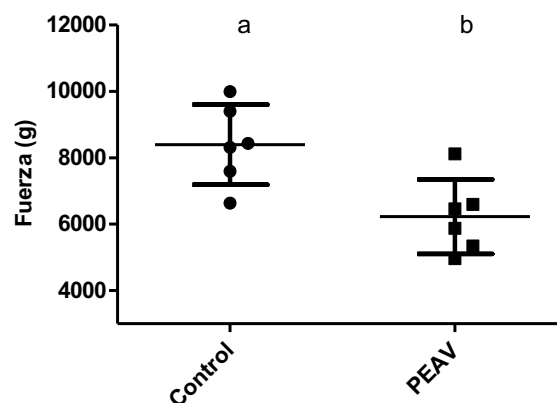


Figura 24. Medida instrumental de la dureza de las longanizas mediante el test de ruptura por cizalla con la célula Warner-Bratzler.

Por lo tanto, aunque no se acortaron los tiempos de deshidratación, en las longanizas pulsadas sí que se apreció una ligera mejora desde el punto de vista sensorial, al percibirse la longaniza fabricada con carne tratada más jugosa que la fabricada con carne sin tratar. Este hecho podría ser atribuido a que tras aplicar los PEAV, además del agua, puede que salgan otros compuestos hidrosolubles como proteínas que pueden afectar a la textura del producto final. Esta hipótesis resulta muy interesante y por ello considero necesario que se lleven a cabo futuras investigaciones para estudiar más profundamente lo que sucede desde el punto de vista estructural al tratar la carne por PEAV.

Por último, se realizó un segundo estudio en longanizas con objeto de analizar la influencia de los PEAV en la microbiota del producto. En este caso, el campo eléctrico aplicado fue de 0.1 kV/cm ya que hubo que utilizar el equipo Nutripulse debido a que el equipo empleado en el primer estudio no funcionaba correctamente. En este ensayo, no se observan diferencias ni en los tiempos de deshidratación ni en los análisis de textura, lo que es razonable ya que el campo eléctrico aplicado fue 10 veces inferior al determinado como óptimo (1 kV/cm). Durante toda la desecación se controló el pH, la CRA y la a_w sin observarse diferencias entre las longanizas elaboradas con carne pulsada y las fabricadas con carne sin tratar.

En referencia al análisis de la microbiota, se estudió la evolución de aerobios mesófilos totales, enterobacterias, *Staphylococcus* spp y bacterias ácido lácticas a lo largo del tiempo. En la Figura 25 (a y b) se muestra la evolución de los diferentes grupos microbianos a lo largo del secado y no se observan diferencias entre las longanizas elaboradas con carne pulsada y las control. Esto sería debido, por una parte, a que el campo eléctrico aplicado fue muy bajo para dañar e inactivar las células procariontas cuyo tamaño es muy pequeño (0,1-0,5 μm), requiriéndose para ello campos eléctricos superiores a 10 kV/cm (Alvarez et al., 2000). Por otra parte, indicaba que los cambios inducidos por los PEAV en la carne no influirían de forma negativa en el desarrollo de la microflora específica de este tipo de productos.

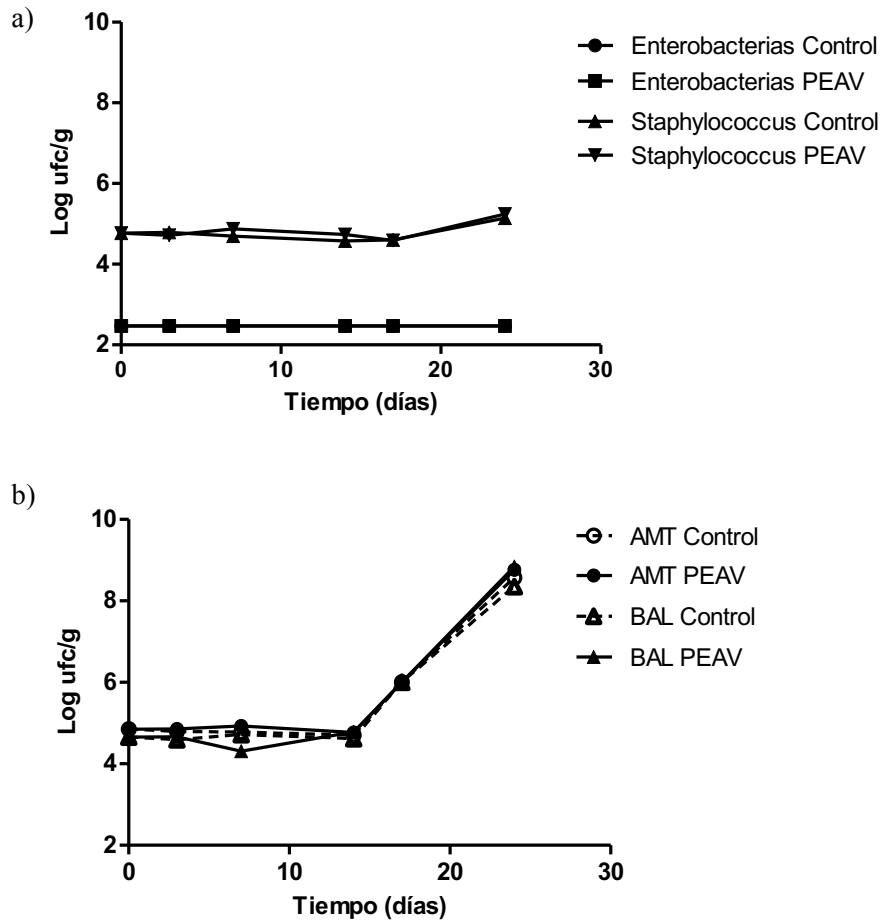


Figura 25. Evolución de los diferentes grupos microbianos a lo largo del tiempo de secado de las longanizas. ATM: *Aerobios Mesófilos Totales*; BAL: *Bacterias Ácido Lácticas*.

5. CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos indican que las condiciones óptimas de aplicación de PEAV a muestras de carne de cerdo (determinadas a nivel de laboratorio) fueron: 1 kV/cm, pulsos de 200 μ s y una energía total aplicada de 28 kJ/kg. Este tratamiento permitió alcanzar una mayor deshidratación (60,4%) que las muestras control y una velocidad de deshidratación superior.
- El tamaño de partícula es un parámetro muy importante en los procesos de secado y que puede condicionar la efectividad de los tratamientos de PEAV para la mejora de los procesos de secado de la carne determinándose un tamaño de corte ideal con una relación superficie/volumen de 5,5 cm^{-1} (muestra “4 trozos”). Los resultados mostraron que el efecto beneficioso de los PEAV disminuía cuando estos se aplicaron para la deshidratación de carne picada.

- Los ensayos de fabricación de longaniza a partir de carne pulsada no permitieron validar la aplicación de los PEAV para conseguir acortar los tiempos de secado, pero se observó una mejora en la textura que fue valorada de forma positiva sensorialmente. No obstante, dado que los tratamientos aplicados fueron sensiblemente inferiores a los que previamente se habían determinado como óptimos, serán necesarios nuevos ensayos para obtener conclusiones sólidas a este respecto.

6. CONCLUSIONS

- The results obtained indicate that the optimum conditions for the application of PEF to pork samples (determined at laboratory level) were: electric field strength of 1 kV/cm, pulses width of 200 μ s and a total applied energy of 28 kJ/kg. This treatment resulted in higher degree of dehydration (60.4%) than the control samples and a higher rate of dehydration.
- Particle size is a very important parameter in drying processes and can influence the effectiveness of PEF treatments in improving meat drying processes by determining an optimal particle size with a surface/volume ratio of 5,5 cm^{-1} (sample "4 trozos"). The results showed that the positive effect of PEF was reduced when applied for dehydration of minced meat.
- The assays of sausage making from pulsed meat did not allow validating the application of the PEF to reduce the drying times, but there was an improvement in the texture that was positively evaluated in a sensorial way. However, as the treatments applied were significantly lower than previously determined to be optimal, further studies will be necessary to obtain strong conclusions in this respect.

7. VALORACIÓN PERSONAL

Realizar este trabajo me ha aportado muchas experiencias que me han enriquecido tanto desde el punto de vista personal como profesional. Además, en mi caso, he tenido la oportunidad de realizarlo habiendo obtenido una Beca de colaboración del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, por lo que me ha permitido sumergirme más profundamente en el tema que he estudiado.

Por otra parte, desarrollar este proyecto me ha ayudado a desarrollar capacidades y a enfrentarme a situaciones que anteriormente no se me habían presentado. Principalmente, a que, al ser este un trabajo individual y parcialmente autónomo, he tenido que

desenvolverme por mí misma tanto a en el laboratorio como a la hora de tratar con profesores y demás profesionales de la universidad (técnicos de laboratorio, técnicos de la planta piloto, doctorandos) de los que, además, he aprendido mucho. Valoró positivamente el hecho de haber aprendido a solucionar problemas, plantear y llevar a cabo pruebas de laboratorio, analizar y debatir resultados, etc. Además, he podido trabajar en el área de la tecnología y, concretamente, con Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje, área de investigación que me parece muy interesante tanto desde el punto de vista meramente tecnológico como por sus potenciales aplicaciones en los alimentos.

Desde mi punto de vista, durante el desarrollo del "Trabajo Fin de Grado" consigues poner en práctica todo lo aprendido durante los años anteriores, pero además contribuye a que uno aprenda a pensar y a razonar.

Personalmente, ha sido un trabajo muy satisfactorio del que he aprendido mucho y que me gustaría en un futuro poder seguir trabajando en ello, ya que el mundo de la investigación es un campo que me atrae mucho.

8. BIBLIOGRAFÍA

Ade-Omowaye B. I., Angersbach, A., Eshtiaghi, N. M. y Knorr, D. (2000): "Impact of high intensity electric field pulses on cell permeabilisation and as pre-processing step in coconut processing", *Innovative Food Science and Technologies*, 1, pp: 203-209.

Alahakoon, A.U., Faridnia, F., Bremer, P.J., Silcock, P., Oey, I. (2016): "Pulsed Electric Fields Effects on Meat Tissue Quality and Functionality", en Miklavcic. D., *Handbook of Electroporation*, Springer.

Álvarez, I. y Raso, J. (2017): "Bacterial Inactivation for Food Preservation", en Akiyama, H., Heller, R., *Bioelectrics*, Japan, Springer, pp: 428-439.

Alvarez, I., Raso, J., Pagán, R. y Sala, F.J. (2000): "La conservación de los alimentos mediante pulsos eléctricos de alto voltaje. Aspectos biológicos", *Alimentación, equipos y tecnología*, 19, pp:143-152.

Asociación Nacional de Industrias de la Carne de España (ANICE) (2018). Disponible en: https://www.anice.es/industrias/el-sector/el-sector-carnico_171_1_ap.html [Consultado 02-04-2018].

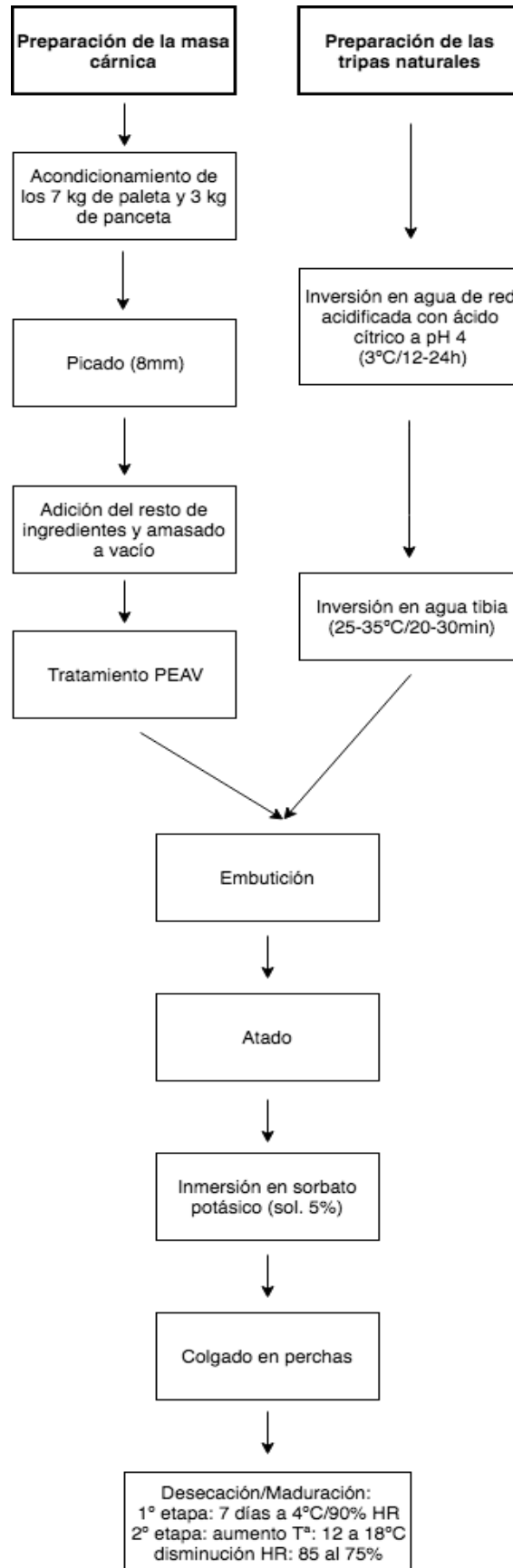
Barbosa-Cánovas, G.V. Fernández-Molina, J. J. y Swanson, B. G. (2001): "Pulsed electric fields: A novel technology for food preservation", *Agro Food Industry Hi-Technology*, 12, pp: 9-14.

- Buzrul, S., y Alpas, H. (2004): "Modeling the synergistic effect of high pressure and heat on inactivation kinetics of *Listeria innocua*: a preliminary study", *FEMS Microbiology Letters*, 238 (1), pp: 29-36.
- Casp, A. y Abril, J. (2003): *Procesos de conservación de alimentos*. Madrid: Editorial Mundi-Prensa. pp: 332-341.
- España. Real Decreto 474/2014, de 13 de junio, por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos. Boletín Oficial del Estado, 18 de junio de 2014 (147), 46058-46078.
- Feng, H. (2002): "Analysis of microwave assisted fluidized-bed drying of particulate product with a simplified heat and mass transfer model". *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 29, pp: 1021–1028.
- Geeraerd, A.H., Herremans, C.H., y Van Impe, J.F. (2000): "Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment", *International Journal of Food Microbiology*, 59(3), pp: 185-209.
- Gou, P., Comaposada, J. (2002): "Parámetros implicados en el proceso de secado de jamón curado", *Eurocarne*, 105.
- Gouma, M., Alvarez, I., Condón, S., y Gayán, E. (2015): "Modelling microbial inactivation kinetics of combined UV-H treatments in apple juice", *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27, pp: 111-120.
- Honikel, K. (1998): "Reference Methods for the Assessment of Physical Characteristics of Meat", *Meat Science*, 49 (4), pp. 447-457.
- Jimenez, F., Carballo, J (1989): "Principios básicos de elaboración de embutidos", *Hojas divulgadoras*, (4).
- Moreno, B. (2003). *Higiene e inspección de carne*. Madrid: Editorial Diaz de Santos. pp. 486.
- Puértolas, E., Luengo, E., Álvarez, I. y Raso, J. (2012): "Improving Mass Transfer to Soften Tissues by Pulsed Electric Fields: Fundamentals and Applications", *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, pp: 263-282.
- Raso, J., Álvarez, I., Condón, S. y Sala, F.J. (1999): "La conservación de los alimentos mediante pulsos eléctrico de alto voltaje. Aspectos técnicos", *Alimentación: equipos y tecnología*, 8, pp: 115- 124.
- Reyna, L., Figueroa, J. L. y Martínez, R. D. (2016). "Calidad de la carne de cerdo en canal. Impacto de los genes halotano y napole". *Ciencia UANL*, 19 (80), pp. 74-80.

- Ross, T. (1996): "Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology". *Journal Applied of Bacteriology*, 81, pp: 501–508.
- Teissié, J., Eynard, N., Vernhes, M.C., Bénichou, A., Ganeva, V., et al. (2002): "Recent biotechnological developments of electropulsation. A prospective review". *Bioelectrochemistry*, 55, pp: 107–12.
- The Engineering Toolbox. Disponible en: https://www.engineeringtoolbox.com/specific-heat-capacity-food-d_295.html [Consultado 01-06-2018].
- Toepfl, S., Heinz, V. y Knorr, D. (2006a). "Applications of Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry". En: Raso, J. y Heinz, V. *Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry*. Nueva York: Springer, pp. 197-217.
- Toepfl, S., Mathys, A., Heinz, V. y Knorr, D. (2006b): "Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing", *Food Reviews International*, 22, pp:405–23.
- Trout, G.R. (1988): "Techniques for Measuring Water-Binding Capacity in Muscle Foods- A Review of Methodology", *Meat Science*, 23, pp. 235-252.
- UNE-EN ISO 21528-2: Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la detección y el recuento de *Enterobacteriaceae*. Parte 2: Técnica para el recuento de colonias (ISO 21528-2:2017).
- UNE-EN ISO 4833-2: "Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Parte 2: Recuento de colonias a 30°C mediante la técnica de siembra en superficie (ISO 4833-2:2013).
- Vidal, J.L. (1997): "Tecnología de los embutidos curados", *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 1 (5), pp: 129-133.
- Vorobiev, E. y Lebovka, N. I. (2006). "Extraction of intercellular components by pulsed electric fields". En Raso, J. y Heinz, V. (Eds). *Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry: Fundamentals and Applications*. Nueva York: Springer, pp. 153-194.
- Wouters, P. C., Dutreux, N., Smelt, J. P. P. y Lelieveld, H. L. M. (1999): "Effects of pulsed electric fields on inactivation kinetics of *Listeria innocua*". *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (12), pp: 5354-5371.
- Zimmermann, U., Pilwar, G. y Riemann, F. (1974): "Dielectric breakdown of cell membranes", *Biophysical Journal*, 14, pp: 881-889.
- Braña, D., Ramírez, E., Rubio, M., Sanchñez, A., Torrescano, G., et al. (2011): "Manual de Análisis de Calidad en Muestra de Carne", *Folleto Técnico*, 11.

ANEXOS

1. DIAGRAMA DE ELABORACIÓN DE LONGANIZA (Vidal, 1997)



2. MODELIZACIÓN MEDIANTE EL MODELO MATEMÁTICO DE FICK Y EL MODELO DE GEERAED

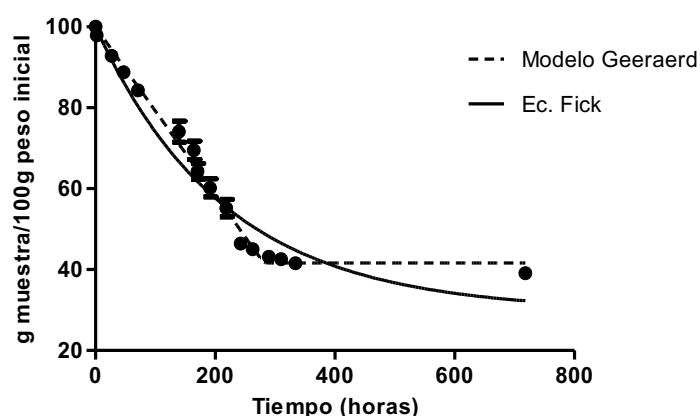


Figura A2. Modelización de la curva de deshidratación de muestras de carne de cerdo sin tratar y de 2.5mm de tamaño de picado mediante el modelo matemático de Fick y el de Geeraerd.

3. COMPARACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS MODELOS

Tabla A3. Comparación de la bondad del ajuste de los dos modelos matemáticos (modelo de Fick y modelo de Geeraerd) empleados para el ajuste de las curvas de deshidratación de carne de cerdo picada. Según distintos tamaños de picado: a) 2,5 mm; b) 4.0 mm; c) 6.8 mm

| a) | Control 2.5 mm | | PEAV 2.5 mm | |
|----------------|----------------|----------|-------------|----------|
| | Fick | Geeraerd | Fick | Geeraerd |
| R ² | 0,9539 | 0,9932 | 0,9588 | 0,9947 |
| ECM | 4,3552 | 1,7850 | 4,3035 | 1,6169 |
| B _f | 0,9992 | 1,0011 | 0,9988 | 1,0011 |
| A _f | 1,0903 | 1,0321 | 1,0928 | 1,0300 |

| b) | Control 4.0 mm | | PEAV 4.0 mm | |
|----------------|----------------|----------|-------------|----------|
| | Fick | Geeraerd | Fick | Geeraerd |
| R ² | 0,9602 | 0,9952 | 0,9595 | 0,9951 |
| ECM | 4,1849 | 1,6474 | 4,2460 | 1,7195 |
| B _f | 1,0014 | 1,0099 | 1,0010 | 1,0101 |
| A _f | 1,0868 | 1,0333 | 1,0925 | 1,0326 |

| c) | Control 6.8 mm | | PEAV 6.8 mm | |
|----------------|----------------|----------|-------------|----------|
| | Fick | Geeraerd | Fick | Geeraerd |
| R ² | 0,9638 | 0,9954 | 0,9593 | 0,9950 |
| ECM | 3,7766 | 1,6079 | 4,1166 | 1,5947 |
| B _f | 0,9958 | 0,9976 | 0,9976 | 0,9995 |
| A _f | 1,0815 | 1,0297 | 1,0893 | 1,0307 |

4. IFT-EFFOST 2018 INTERNATIONAL NONTHERMAL PROCESSING WORKSHOP AND SHORT COURSE

Socio-economic and environmental impact of novel food products and processes based on nonthermal technologies. September 25-27, 2018 / Sorrento-Salerno, Italy

Basic study of the effects of Pulsed Electric Fields in meat drying process

Astráin, L., Raso, J., Cebrián, G., Álvarez, I.

Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Instituto Agroalimentario de Aragón– IA2 - (Universidad de Zaragoza-CITA), Zaragoza, Spain.

Pulsed Electric Field (PEF) technology can cause cell electroporation accelerating water diffusion processes as it happens when dehydrating food products. This can be of interest in meat cured products such as cured sausages that have long drying states. However, there is hardly any data concerning to this point.

Therefore, the aim of this work was to make a basic study about the potential of PEF technology to accelerate drying process in meat

PEF treatments were applied in 2cmx2cm loin pork samples evaluating the influence of different PEF (electric field strength, pulse width, specific energy, muscle cell orientation) and air drying parameters (air temperature, meat size pieces/particles) on the dehydration of meat.

It was determined an optimal PEF treatment of 1 kV/cm, 200 μ s of pulse width and 28 kJ/kg applied to meat samples with a perpendicular muscle cell orientation respect the electric field strength, increasing dehydration by 60.4% after the same dehydration time at 4°C.

The size of meat pieces/particles noticeably influenced dehydration rates determining the highest rates in samples with a surface/volume ratio of 5.50. This effect tended to disappear when decreasing the particle size in minced meat.

In a first approach, no differences in dehydration rates were observed after 30-days curing of cured sausages (Spanish “longaniza”) from PEF- and non-PEF-treated meat mixed with fat. However, texture analyses presented lower shear force values and the sensory evaluation was favourable to PEF-treated longanizas.

These results show the potential of PEF technology in drying processes of meat based on the permeabilization of muscle cells. Even so, further research is necessary into structural cell changes and the effects of PEF in minced meat dehydration.

