



ULTRASONIDOS DE SEÑAL NO DESTRUCTIVOS APLICADOS PARA LA EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE GRASA FUNDIDA EN LOS PRODUCTOS CÁRNICOS CURADOS

MASTER EN CIENCIA E INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

Nombre alumno:

Edith Corona Jiménez

Directores:

**Jose Javier Benedito Fort
Jose Vicente García Pérez**

Centro:

**Departamento de Tecnología de Alimentos
Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios (ASPA)**

ULTRASONIDOS DE SEÑAL NO DESTRUCTIVOS APLICADOS PARA LA EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE GRASA FUNDIDA EN LOS PRODUCTOS CÁRNICOS CURADOS

RESUMEN

El porcentaje de grasa fundida (% GF) es un factor importante en la calidad de los productos cárnicos crudo-curados. Las medidas no destructivas de la velocidad de ultrasonidos han sido utilizadas para determinar la composición de diferentes productos alimentarios. En este trabajo, se evaluó el uso de ultrasonidos para caracterizar la fusión de grasas en productos cárnicos crudo-curados elaborados con diferentes tipos de grasa. La velocidad de ultrasonidos fue medida a diferentes temperaturas (2, 6, 10, 15, 20 y 30 °C) en tres lotes diferentes de salchichas curadas envasadas al vacío. Las salchichas fueron elaboradas a partir de una base de carne magra mezclada con tres diferentes tipos de grasas: montanera, aceite de girasol y manteca. Se realizaron análisis de Calorimetría Diferencial de Barrido (**Differential Scanning Calorimetry, DSC**) para evaluar el comportamiento térmico y determinar el porcentaje de grasa fundida (% GF). Los resultados mostraron una influencia significativa ($p < 0.05$) de la temperatura en la velocidad de los ultrasonidos y el porcentaje de grasa fundida. El aumento de la temperatura conllevó un incremento del porcentaje de grasa fundida y por consiguiente, una disminución de la velocidad ultrasónica. Así, se estableció una relación lineal ($R^2 = 0.95$) significativa ($p < 0.05$) entre la velocidad de ultrasonidos y el porcentaje de grasa fundida. Además, las medidas ultrasónicas permitieron relacionar el patrón de fusión de la grasa de las salchichas con la composición de las mismas. Por lo tanto, las medidas ultrasónicas pueden ser utilizadas para evaluar el porcentaje de grasa fundida en productos cárnicos, así como clasificarlos en función del origen de la grasa. El porcentaje de grasa fundida está directamente relacionado con los atributos sensoriales (sabor, textura y apariencia), como consecuencia, las medidas no destructivas de velocidad de ultrasonidos pueden ser utilizadas para evaluar la calidad de salchichas curadas.

Palabras clave: Ultrasonidos, salchichas curadas, DSC, grasa fundida.

ABSTRACT

The percentage of melted fat (% MF) is an important factor for determining the quality of meat products. Non-destructive measurements of ultrasonic velocity have been used for the determination of foodstuff composition. In this work, the melting behavior and the percentage of melted fat from different dry-cured sausages were assessed by using ultrasonics. The ultrasonic velocity at different temperatures (2, 6, 10, 15, 20 and 30 °C) was measured in three types of vacuum-packaged dry-cured sausages. The

sausages were elaborated by mixing lean meat with “Montanera”, sunflower oil and lard. Differential Scanning Calorimetry (DSC) was used to evaluate the thermal behavior and to calculate the percentage of melted fat (% MF). The results showed a significant influence ($p < 0.05$) of temperature on the ultrasonic velocity and the percentage of melted fat. The temperature increase caused an increase in the percentage of melted fat and therefore a decrease in ultrasonic velocity. Thus, a significant ($p < 0.05$) linear relationship ($R^2 = 0.95$) was established between ultrasonic velocity and the percentage of melted fat. In addition, ultrasonic velocity measurements were able to correlate the melting fat pattern of the sausages with their composition. Therefore ultrasound could be used to assess the % MF in meat products and classify them according to the origin of fat. The % MF is directly linked to the sensory attributes (flavor, texture and appearance) and consequently, non-destructive measurements of ultrasonic velocity could be used to assess the quality of dry-cured sausages.

Palabras clave: Ultrasonic, dry-cured sausages, DSC, melted fat.

RESUM

El percentatge de greix fos (% GF) és un factor important per a la determinació de la qualitat en productes carnis. Les mesures no destructives de la velocitat d'ultrasons han sigut utilitzades per a determinar la composició dels productes alimentaris. En aquest treball, el comportament fonamental i el percentatge de greix fos per a tres tipus de salsitxes curades fou avaluat a diferents temperatures emprant ultrasons. La velocitat d'ultrasons fou mesurada a diferents temperatures (2, 6, 10, 15, 20 i 30 °C) en tres lots diferents de salsitxes curades envasades al buit. Les salsitxes foren elaborades a partir d'una base de carn magra mesclada amb tres diferents tipus de greixos: montanera, oli de gira-sol i sagí. Es van realitzar anàlisi de “Calorimetria Diferencial de Barrido” (Differential Scanning Calorimetry, DSC) per a avaluar el comportament tèrmic i determinar el percentatge de greix fos (% GF). Els resultats van mostrar una influència significativa ($p < 0.05$) de la temperatura en la velocitat dels ultrasons i el percentatge de greix fos. L'augment de la temperatura va comportar un increment del percentatge de greix fos i per consegüent, una disminució de la velocitat ultrasònica. Així, es va establir una relació lineal ($R^2=0.95$) significativa ($p < 0.05$) entre la velocitat d'ultrasons i el percentatge de greix fos. A més, les mesures ultrasòniques van permetre relacionar el patró de fusió del greix de les salsitxes amb la composició de les mateixes. Per tant, les mesures ultrasòniques poden ser utilitzades per a avaluar el percentatge de greix fos en productes carnis, així com classificar-los en funció de l'origen del greix. El percentatge de greix fos està directament relacionat amb els atributs sensorials (sabor, textura i aparença), i com a conseqüència, les mesures no destructives de velocitat d'ultrasons poden ser emprades per a avaluar la qualitat de salsitxes curades.

Palabras clave: Ultrasons, salsitxes curades, DSC, greix fos.

INTRODUCCIÓN

La calidad de un producto curado es de gran importancia para su aceptación por parte del consumidor, por lo tanto es un factor determinante para establecer su valor de mercado. Además, resulta de gran interés poder caracterizar la calidad de productos curados para evitar fraudes.

Para los productos curados, el componente responsable en gran medida de sus características de calidad es el componente graso. El grado de fusión de la grasa es la variable responsable de algunas propiedades sensoriales importantes como son la jugosidad, apariencia, textura y aroma. El punto de fusión de los ácidos grasos disminuye con el aumento de dobles enlaces y aumenta con el número de carbonos en la cadena. Por lo tanto, el perfil de ácidos grasos determinará el estado físico de la grasa (líquida o sólida) a una determinada temperatura.

Para la determinación de la composición en ácidos grasos se utiliza la cromatografía gaseosa. Para ello es necesaria una extracción previa de la grasa y la obtención de los ésteres metílicos de los ácidos grasos para su posterior análisis por cromatografía gaseosa.

La Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) nos permite estudiar los diferentes cambios de fase (cristalización, fusión, transición vítrea...) que tienen lugar en los alimentos, tanto a temperatura constante (cristalización isotérmica), como en un determinado rango de temperaturas. Ésta técnica ha sido ampliamente utilizada en la determinación de las características térmicas (perfil de fusión, calor específico...) de aceites y grasas (Keller et al., 1996; Loisel et al., 1998) y podría ser de utilidad para caracterizar las propiedades del componente graso de los alimentos. Tanto la cromatografía gaseosa como el DSC son técnicas de control de calidad destructivas.

En la industria agroalimentaria, existe actualmente una tendencia en la búsqueda de técnicas no destructivas de control de calidad. Entre otras técnicas no destructivas, destacan los ultrasonidos de señal. Ésta técnica analítica además de ser rápida, resulta precisa y no destructiva por lo que puede facilitar su difusión frente a métodos tradicionales que generalmente resultan laboriosos, destructivos y difícilmente automatizables (Mulet et al., 1999a).

La aplicación de ultrasonidos de señal en el control de productos se basa en la determinación de una serie de parámetros ultrasónicos, que se relacionan con las características físico-químicas de los alimentos. La velocidad y atenuación de la onda ultrasónica son las variables que comúnmente se utilizan para estas aplicaciones. El estudio de la relación de la velocidad de los ultrasonidos con la temperatura ha sido utilizado en la determinación de la composición de productos cárnicos (Benedito et al., 2001a), así como en el estudio de la aplicación de los ultrasonidos en sobrasada (Llull et al., 2002b), en la estimación del contenido en grasa de músculos de carne (Whittaker et al., 1992) y en el estudio de jamones de cerdos ibéricos para su caracterización en función del tipo de raza y alimentación (Niñoles et al., 2007 y Niñoles et al., 2008). Ésta técnica también se ha utilizado en otras aplicaciones de la industria de alimentos como en la evaluación del contenido en alcohol de bebidas alcohólicas

(Winder et al., 1970), así mismo para el seguimiento de cambios de composición en procesos de fermentación alcohólica (Resa et al., 2004) y en el control de calidad en la maduración del queso (Benedito et al., 2001b). Benedito et al. (2002a) estudiaron la degradación del aceite de oliva virgen con el calentamiento mediante ultrasonidos.

Teniendo en cuenta lo anteriormente indicado, el objetivo de este trabajo es utilizar medidas ultrasónicas no destructivas para caracterizar la fusión de grasas en productos cárnicos crudo-curados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las muestras.

Se utilizaron salchichas curadas realizadas a partir de una base de carne magra (3% grasa) mezclada con tres diferentes tipos de grasas: tocino de cerdo de montanera, manteca de cerdo y aceite de girasol. En todos los casos se añadió el mismo contenido de grasa (9%), obteniendo de esa forma, tres tipos de lotes de salchichas diferentes. Las muestras fueron sometidas a un proceso tradicional de elaboración, con las etapas de picado, amasado, reposo, embutido, fermentación, secado y maduración. Tras el picado y embutido en tripa artificial de colágeno (6 cm de diámetro y 15 cm aproximadamente de largo), las muestras se mantuvieron en condiciones adecuadas de temperatura en función de la evolución de su comportamiento dentro de un rango de temperatura de 14 a 25 °C y una humedad relativa entre un 65 y un 72% durante un periodo de 14 días hasta conseguir una desecación y estabilidad adecuada del producto. Las condiciones de preparación de las muestras fueron determinadas y realizadas por el personal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura (UNEX).

Una vez las muestras estuvieron preparadas, se retiró la tripa de todas las salchichas y posteriormente se envasaron a vacío para su posterior análisis.

Determinación del perfil de ácidos grasos

Se determinó la composición de ácidos grasos para la grasa de montanera, la manteca y el aceite de girasol, mediante cromatografía en fase gaseosa.

Se obtuvieron los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAMEs) por trans-esterificación ácida en presencia de ácido sulfúrico (5% de ácido sulfúrico en metanol) (Cava, 1997). Los FAMEs fueron separados y su análisis se realizó en un cromatógrafo de gases (HP-5890A, Palo Alto, US) equipado con un inyector "on column" y con columna semicapilar de sílice fundida (30 m x 0.53 mm x 1.00 µm), con fase estacionaria polar de FFAP (Polietilenglicol-TPA modificado). La temperatura de la columna se mantuvo a 225°C. los compuestos fueron detectados en un inyector de ionización de llama (FID), siendo la temperatura del detector y el inyector de 230°C. Se

utilizó N₂ como gas portador, con un flujo de 1.8 mL/ min. Los ácidos grasos fueron identificados por comparación de los tiempos de retención con los diferentes patrones (Sigma, St Louis, US). Estas medidas fueron llevadas a cabo en la UNEX.

Calorimetría Diferencial de Barrido

Se realizaron medidas de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) con el objetivo de evaluar el comportamiento térmico y por lo tanto fundente de cada tipo de grasa en las muestras. Dichos ensayos se llevaron a cabo en un equipo DSC (Seiko Instruments- 5200CU, Torrance, C.A.), utilizando como medio refrigerante Nitrógeno líquido.

Las muestras de salchichas fueron previamente trituradas y secadas (24 horas a 105 °C). Se introdujeron 18 mg de muestra en una cápsula de aluminio (Perin Elmer-N5356008, Wellesley, US) para posteriormente ser selladas y pesadas en una balanza (AND-ER182-A, Tokio, Japón) con sensibilidad de 0.01 mg. A continuación se sometieron al siguiente barrido de temperaturas (Benedito et al., 2001a) para su acondicionamiento: primero un aumento de temperatura de 26 °C a 40 °C con una velocidad de calentamiento de 5 °C/min, mantenimiento de la muestra atemperando durante 5 min a 40 °C y a continuación descenso de la temperatura desde 40 °C a -50 °C a 5 °C/min. Seguidamente, se mantuvo a 5 min a -50 °C y finalmente se obtuvo la curva de DSC aumentando la temperatura desde -50 °C a 40 °C a 5 °C/min. A partir de las curvas de DSC se calculó el porcentaje de grasa fundida (% GF). Se determinó para cada uno de los picos de fusión identificados en las curvas, la temperatura máxima (T_{max}, °C), temperatura de inicio de pico (T_o, °C) y el calor latente (ΔH, mJ/mg) (Cebula y Smith, 1992).

Descripción del sistema ultrasónico

Las medidas ultrasónicas se realizaron dentro de una cámara frigorífica con temperatura controlada utilizando un sistema de excitación de transductores ultrasónicos y de digitalización de la señal. Además, se utilizó un dispositivo de medida del espesor de las muestras. A continuación se describen los distintos elementos que conforman el sistema de medida (FIGURA 1).

- **Transductores** (Panametrics, Inc.-A314S-SU, Waltham, US) piezoeléctricos, de frecuencia central de 1 MHz de banda estrecha, con un diámetro del cristal de 19 mm, de inmersión, focalizado, y conector UHF con tipo de onda longitudinal. Los transductores son dispositivos que al ser excitados, por un pulso eléctrico vibran, transmitiendo estas vibraciones en forma de ondas ultrasónicas al material que se encuentra en contacto con ellos (Mulet et al., 2002).
- **Generador-receptor** (Matec, Toneburst Computer Controlled-PR5000HP, Northborough, US). Éste equipo es el encargado de proporcionar el pulso electrónico adecuado (frecuencia, amplitud y

duración) para conseguir excitar el transductor. Los receptores, amplifican y acondicionan (filtrado) la señal proveniente del transductor receptor (Mulet et al., 1999a) y se encuentran integrados en el equipo generador de la señal, formando el equipo generador-receptor. Una vez amplificada y filtrada, la señal proveniente del receptor puede ser enviada a un osciloscopio analógico o a un dispositivo digitalizador para su posterior tratamiento.

- **Osciloscopio digitalizador** (Tektronix, digital phosphor Oscilloscope-5034, Oregon, US) integrado en un ordenador personal para la adquisición y tratamiento de los datos obtenidos a partir de las señales ultrasónicas. Este elemento permite realizar la conversión de una señal eléctrica continua en una serie de puntos discretos a través de los cuales se puede reconstruir la señal ultrasónica original.
- **Dispositivo de medida del espesor de la muestra** que permite una lectura máxima de 27 cm de altura, garantizando que los transductores se alinean entre ellos y se mantienen perpendiculares sobre la muestra ejerciendo una presión constante. Este dispositivo está formado por una plataforma en la que descansa el transductor receptor y en la cual se colocaban las muestras. A un lado de la plataforma se colocó un brazo metálico perpendicular por el cual se desplaza un carro deslizante accionado por un tornillo sin fin unido a un motor unipolar paso a paso de 4 fases (RS 440-458, Taiwán). En el carro deslizante se colocó el transductor emisor de este modo se podían realizar medidas de muestras de diferente espesor. Al carro deslizante se le acopló una célula de carga (Transdutec, TPF-1G, Barcelona, España) de 40 kg de fuerza máxima unida a un controlador de presión (OMRON-K3NV, Osaka, Japon). De esta manera, se podía controlar y mantener constante la presión ejercida por los transductores sobre la muestra durante la medida. El controlador de presión se encontraba unido a un PLC (Hitachi, EC-28HRP, Japón) programado para detener el motor paso a paso una vez se había alcanzado la presión deseada sobre la muestra. La posición del carro deslizante durante la medida se medía con un dispositivo denominado “encoder” (Baumer electric, BHK 06.24K500-B6-5, Suiza) conectado a un PC por medio de una interfaz (RS232).

A continuación se describe la forma de trabajo de todo el sistema ultrasónico (FIGURA 1). El generador-receptor proporciona el impulso eléctrico al transductor emisor generando la onda ultrasónica. Ésta se propaga por el material atravesándolo y es captada por el transductor receptor que la convierte en un impulso eléctrico. Posteriormente, este impulso filtrado y amplificado en el receptor, es trasladado al osciloscopio que digitaliza la señal y la envía al ordenador. En el ordenador se procesa la señal para determinar el tiempo de vuelo (tiempo que tarda la señal ultrasónica en ser registrada desde su generación). Por otro lado, el dispositivo de medida del espesor de la muestra envía su lectura al ordenador por medio de una interfaz RS232.

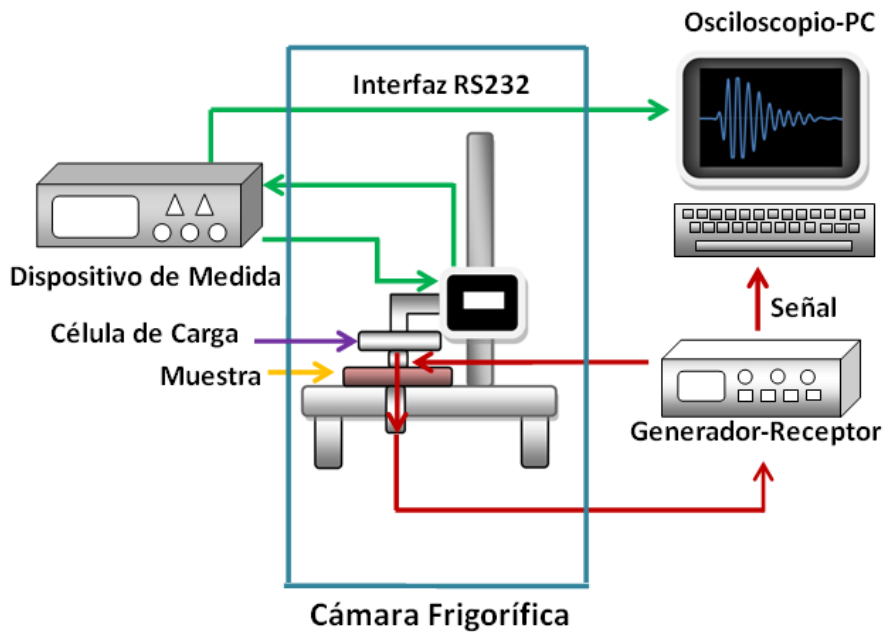


FIGURA 1. Sistema de medida de ultrasonidos

Se desarrolló un software específicamente para esta aplicación en Visual Basic, y se calibró el dispositivo ultrasónico para calcular la velocidad de los ultrasonidos a partir del tiempo de vuelo obtenido del análisis de la señal ultrasónica digitalizada y el espesor de la muestra.

Estimación del retardo en el sistema ultrasónico

Los retrasos eléctricos que se producen en el paso de la corriente eléctrica por los cables, transductores, generador-receptor y osciloscopio, hacen que el tiempo de vuelo medido no sea el tiempo real que tardan los ultrasonidos en atravesar la muestra. Por lo tanto, para calcular la velocidad ultrasónica fue necesario determinar este retardo. Así, el tiempo que tarda la señal ultrasónica en atravesar la muestra se calcula restando el retardo al tiempo de vuelo. Para calcular dicho retardo, se determinó el tiempo de vuelo de la onda ultrasónica en una serie de cilindros de metacrilato de 4 cm de diámetro y alturas conocidas: 1, 2, 3, 4, 5 y 6 cm. De esta forma, el retardo se determinó a partir de la representación del tiempo de vuelo frente al espesor de los cilindros y ajustando una recta a estos valores experimentales. Así, se obtuvo un tiempo de retardo de $0.69 \mu\text{s}$ a partir de la ordenada en el origen de la relación lineal establecida (FIGURA 2).

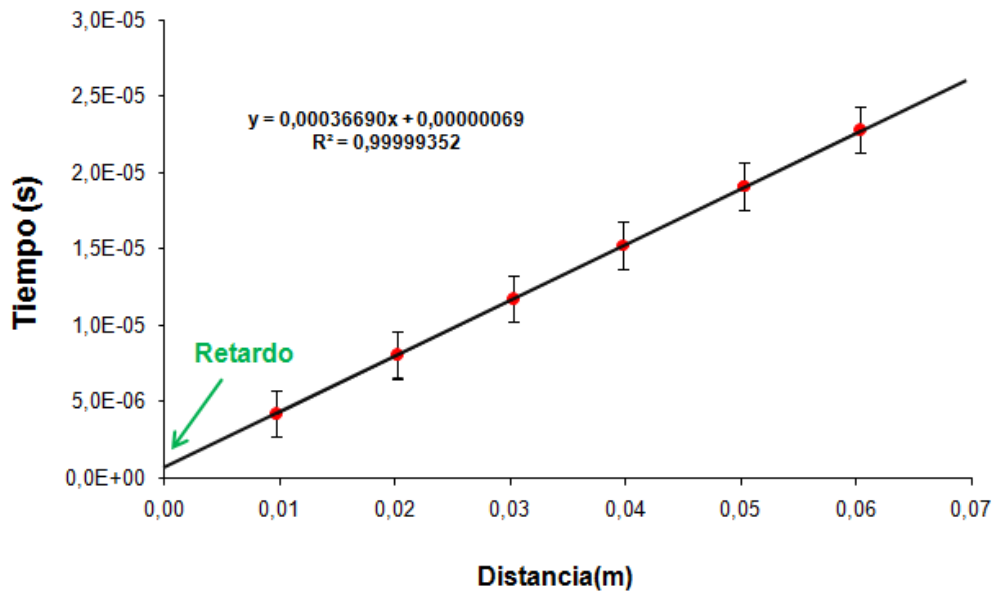


FIGURA 2. Cálculo del tiempo de retardo.

Autores como Benedito et al. (2001a); Lull et al. (2002a) y Simal et al. (2003), han empleado éste procedimiento para el cálculo del retardo.

Medidas ultrasónicas

Los parámetros del generador-receptor utilizados durante las medidas ultrasónicas se detallan a continuación: amplitud del pulso de excitación del transductor de 400 V, frecuencia de repetición de 100 Hz, ganancia del generador de 40 dB, velocidad de adquisición 250 Mmuestras/s, con un total de 2500 puntos adquiridos y se aplicó un filtro para la eliminación de las bajas frecuencias en la señal de 0.3 MHz.

Se realizaron medidas de la velocidad ultrasónica a temperaturas de la muestra de 2, 6, 10, 15, 20 y 30 °C. Las muestras se mantuvieron a la temperatura deseada durante 24 horas antes de la realización de las medidas. Se realizaron las medidas en tres puntos diferentes a lo largo de las salchichas, y cada medida se realizó por triplicado.

Análisis estadísticos

Con ayuda del software estadístico Statgraphics 5.1, se realizaron estudios de ANOVA simples y multifactoriales ($p < 0.05$) para determinar la influencia de la temperatura y del tipo de grasa en la velocidad de los ultrasonidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Perfil de ácidos grasos

El contenido y composición de la grasa en un producto cárnico determina en gran medida la calidad (sabor, textura, apariencia, etc.) y por lo tanto su determinación es de especial importancia.

La TABLA 1 muestra el perfil de ácidos grasos de los diferentes tipos de grasa utilizados para la elaboración de las salchichas.

TABLA 1. Perfil de ácidos grasos en cada una de las grasas utilizadas para la elaboración de los tres lotes diferentes de salchichas curadas.

Ácidos Grasos (%)	Montanera	Manteca	Aceite de Girasol
C10	0.01	0.02	0.00
C11	0.02	0.00	0.01
C12	0.02	0.03	0.04
C14	0.81	0.77	0.04
C14:1	0.02	0.02	0.01
C15	0.03	0.03	0.01
C15:1	0.01	0.01	0.00
C16	20.58	21.61	5.29
C16:1	1.69	2.06	0.12
C17	0.34	0.34	0.04
C17:1	0.32	0.33	0.03
C18	7.88	9.59	5.19
C18:1,N-9	54.60	49.93	24.54
C18:1N-7	1.87	2.97	0.75
C18:2	8.36	8.53	62.01
C18:3N-6	0.05	0.06	0.11
C18:3N-3	0.29	0.55	0.05
C20	1.16	0.27	0.28
C20:1	0.97	1.49	0.10
C20:2	0.28	0.35	0.01
C20:3N-6	0.03	0.00	0.00
C20:4	0.17	0.18	0.02
C20:3N-3	0.08	0.18	0.02
C20:5N-3	0.03	0.02	1.05
C21	0.07	0.00	0.00
C22	0.04	0.03	0.85
C22:1	0.02	0.07	0.04
C22:2	0.02	0.03	0.02
C22:6N-3	0.04	0.04	0.27
C23	0.04	0.08	0.04
C24	0.09	0.08	0.00
C24:1	0.07	0.06	0.07
AGS	31.09	32.86	11.80
AGMI	59.55	56.95	25.65
AGPI	9.35	9.94	63.56
AGI	68.91	66.88	89.21
AGS/AGI	0.45	0.49	0.13

AGS: ácidos grasos saturados, AGMI: ácidos grasos monoinsaturados, AGPI: ácidos grasos poliinsaturados, AGI; suma de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados y AGS/AGI: ratio de ácidos grasos saturados-insaturados.

A partir de los resultados mostrados en la TABLA 1, se observa que dentro del contenido de ácidos grasos saturados el predominante es el Palmítico (C16). La fracción de ácidos grasos saturados es muy superior para la grasa de montanera (31.09 %) y manteca (32.86 %) que en el caso del aceite de girasol (11.80 %). Un elevado contenido de ácidos grasos saturados, le conferirá a la grasa una temperatura de fusión mayor y por lo tanto la existencia de grasa sólida a temperatura próxima a las de consumo.

En cuanto a la fracción de ácidos grasos insaturados, las muestras realizadas a base de aceite de girasol presentaran un contenido más elevado (89,21 %) respecto a las realizadas con manteca (66,88 %) y montanera (68,91 %). Un elevado contenido de ácidos grasos insaturados tiene como consecuencia un mayor estado de fusión a baja temperatura.

Si se compara la manteca y la grasa de montanera, esta última es la que presenta un mayor contenido en ácidos grasos insaturados, por lo tanto, presentará una mayor fusión a la misma temperatura de refrigeración y consumo. Esto afectará a las propiedades texturales y de generación de aromas de las muestras. En el caso de los ácidos grasos insaturados, predomina en montanera y manteca el ácido graso oleico (C18:1, N-9) y el linoléico (C18:2) en aceite de girasol.

Calorimetría Diferencial de Barrido

Se llevó a cabo análisis de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) con el objetivo de caracterizar el comportamiento térmico y por lo tanto la fusión de cada tipo de grasa con las que han sido elaboradas las salchichas curadas. La FIGURA 3 muestra la curva de DSC obtenida para cada uno de los tres diferentes tipos de salchichas.

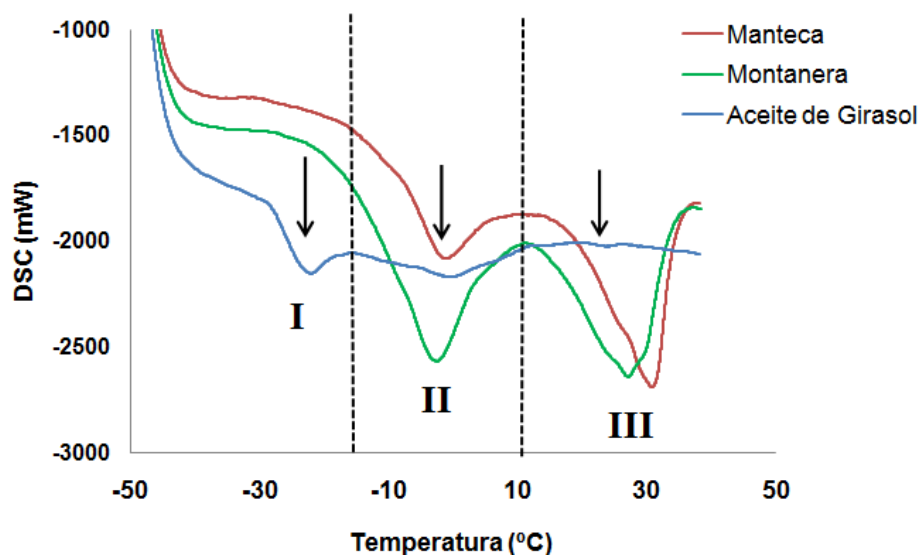


FIGURA 3. Curvas de DSC obtenidas para cada una de las muestras de salchichas curadas elaboradas con tres tipos de grasas.

Para un mejor análisis de los resultados de la fusión de las muestras, se han dividido los gráficos de DSC en tres zonas (I, II y III) en las que se observaron picos de fusión de grasa que muestran la fusión de las diferentes fracciones de triglicéridos. La TABLA 2, muestra las principales propiedades térmicas relacionadas con los cambios de estado para cada uno de los tipos de muestras.

El pico I de cambio de estado está relacionado con la fusión de la fracción grasa más insaturada (triglicéridos diinsaturados), el pico II con la fusión de la fracción de triglicéridos monoinsaturados y el III con la fracción más saturada (Le Meste et al., 1984).

En las muestras elaboradas con aceite de girasol existen tres picos de cambio de estado (I, II y III), siendo I el pico que primero se forma a una temperatura de inicio de fusión de $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$ (TABLA 2). La formación de éste primer pico se debe a la fusión de prácticamente la totalidad del aceite de girasol (75 % total grasa) debido a su carácter altamente insaturado, especialmente en ácido linolénico (46.5 % de la fracción grasa del aceite de girasol). El resto de picos en DSC corresponde a la fusión de la fracción monoinsaturada y saturada del aceite de girasol (28.5 %), y también a la propia fusión de la grasa propia de la carne magra de la salchicha (25 % total grasa).

En el pico II correspondiente a temperaturas de fusión comprendidas entre (-13 y $10\text{ }^{\circ}\text{C}$), la mayor fusión se da para las muestras elaboradas a partir de montanera. Esto se debe a su mayor composición de ácidos grasos monoinsaturados respecto a la manteca. En el pico III correspondiente a temperaturas de fusión comprendidas entre 20 y $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, las muestras de manteca presentaron el calor latente de fusión más elevado. Este hecho se relaciona con su mayor contenido en ácidos grasos saturados.

TABLA 2. Características térmicas de las muestras de salchichas curadas elaboradas con tres tipos de grasa.

		MANTECA	MONTANERA	ACEITE DE GIRASOL
ΔH (J/g)	Pico _I , ΔH_I			0.84
	Pico _{II} , ΔH_{II}	2.75	6.12	0.11
	Pico _{III} , ΔH_{III}	5.33	5.26	0.02
T_{max} ($^{\circ}\text{C}$)	Pico _I			-22.2
	Pico _{II}	-1.10	-2.60	-0.50
	Pico _{III}	30.90	27.10	23.70
T_o ($^{\circ}\text{C}$)	Pico _I			-28
	Pico _{II}	-10.10	-13.80	-13.90
	Pico _{III}	18.20	15.30	21.20

ΔH : Calor latente (J/g), T_{max} : temperatura máxima del pico ($^{\circ}\text{C}$), T_o : temperatura de inicio de pico ($^{\circ}\text{C}$).

Influencia de la temperatura sobre la velocidad ultrasónica

Las medidas de ultrasonidos, mostraron un descenso en la velocidad de los ultrasonidos con el incremento de la temperatura para todo el rango experimental estudiado (2 a 30 °C), hecho que se dio por igual para los tres lotes de muestras, tal y como se puede observar en la FIGURA 4. La misma tendencia ha sido observada en muestras de tejido adiposo de cerdo (Miles et al., 1985, Benedito et al., 2001a) y en muestras de quesos grasos (Mulet et al., 1999b).

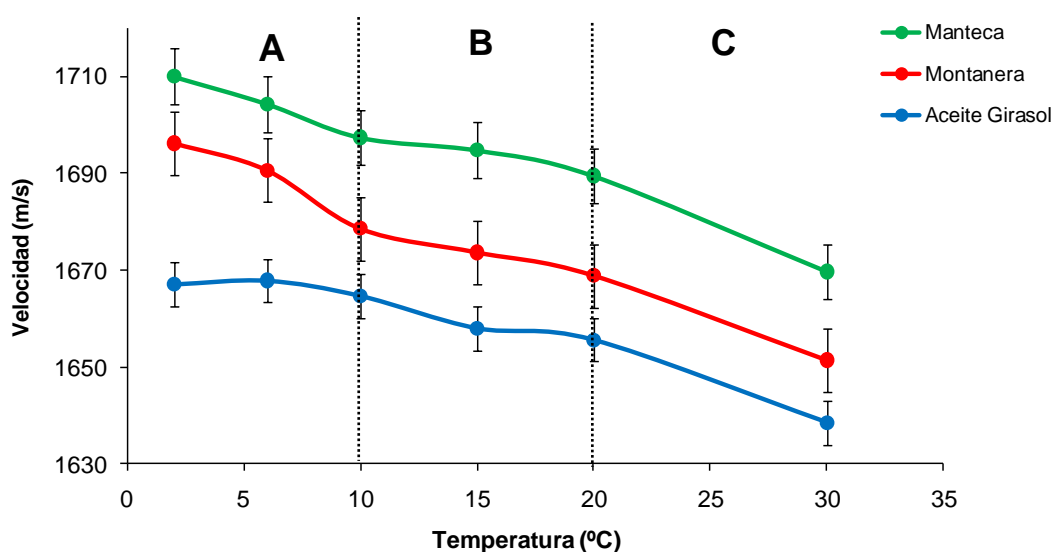


FIGURA 4. Efecto de la temperatura sobre la velocidad ultrasónica en muestras de salchichas curadas elaboradas con diferentes tipos de grasa.

Para el rango de temperaturas en el que se realizaron medidas de ultrasonidos, las curvas de DSC presentaron una fusión significativa de grasas (FIGURA 3). De este modo, el descenso de la velocidad con el incremento de la temperatura en las muestras se debió a dos efectos superpuestos (McClements y Povey, 1988b): el valor negativo del coeficiente de variación de la velocidad con la temperatura tanto en grasas sólidas como líquidas y el descenso en la velocidad debido a la fusión de las grasas a causa del descenso en el ratio sólido/líquido de la muestra que comporta esta fusión.

El perfil de la variación de la velocidad ultrasónica con la temperatura (FIGURA 4), se dividió en tres secciones (Sección A, de 2 a 10 °C, sección B, de 10 a 20 °C y sección C, de 20 a 30 °C). En éstas secciones se apreciaron diferentes tendencias.

En la sección A de la curva (de 2 a 10 °C) se observó un descenso pronunciado en la velocidad ultrasónica con la temperatura para aquellas muestras que contenían manteca y montanera. Mientras que para aceite de

girasol, el descenso de la velocidad con la temperatura fue más moderado (FIGURA 4).

Por otro lado, para el intervalo de temperaturas comprendido de 10 a 20 °C (sección B), el descenso de la velocidad con la temperatura fue más suave en todas las muestras. Esto sería debido al descenso en la fusión de grasas en las curvas de DSC para estas temperaturas (FIGURA 3).

Se observó un segundo descenso pronunciado de la velocidad con la temperatura para las muestras de manteca y montanera. Este hecho también se puede explicar a partir de las curvas de DSC, en el que se observó un pico de fusión para temperaturas comprendidas entre 20 y 30 °C (FIGURA 3).

Con el objetivo de determinar la influencia de la temperatura en la velocidad ultrasónica, se establecieron relaciones lineales entre ambos parámetros. La pendiente de estas relaciones se puede denominar coeficiente de la variación de la velocidad de los ultrasonidos con la temperatura.

En la TABLA 3 se muestran las pendientes medias y los intervalos de confianza ($p < 0.05$) de las estimaciones lineales para cada uno de los lotes y cada una de las tres secciones (A, B y C).

TABLA 3. Coeficientes de la variación de la velocidad de los ultrasonidos con la temperatura.

TIPO DE GRASA	INTERVALO DE TEMPERATURAS		
	2-10 °C	10-20 °C	20-30 °C
Manteca	-1.57±0.70 _A	-0.79±0.51 _B	-1.97±0.45 _C
Montanera	-2.20±0.61 _D	-0.96±0.35 _E	-1.74±0.27 _D
Aceite. Girasol	-0.29±0.40 _F	-0.91±0.27 _F	-1.71±0.80 _F

Los subíndices (A, B, C), (D, E) y (F) muestran grupos homogéneos establecidos mediante intervalos LSD ($p < 0.05$).

Para determinar si existían diferencias significativas entre las variaciones de velocidad con la temperatura en los diferentes intervalos de temperatura, se realizó un ANOVA unifactorial ($p < 0.05$) para cada tipo de muestra.

Los valores medios de las pendientes de las muestras elaboradas con aceite de girasol no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) con la temperatura. Esto es debido a que la influencia de la temperatura en los ultrasonidos es menor en este tipo de materia grasa al encontrarse a cualquiera de las temperaturas del estudio completamente líquida. Por tanto, la variación de la velocidad de ultrasonidos con la temperatura de estas muestras se debe principalmente a la fusión propia de la carne, que representa una pequeña fracción del total de la grasa.

Para las muestras realizadas con manteca y montanera, se encontró que existe una diferencia significativa entre la variación de la velocidad con la temperatura. De este modo, para el intervalo de 10 a 20 °C, la pendiente fue estadísticamente inferior (disminuye menos con la temperatura) que en el resto de intervalos de temperaturas (2-10 °C y 20-30 °C).

Para los rangos de temperaturas comprendidos de 2 a 10 °C y de 20 a 30 °C, los valores medios de las pendientes son mayores (más negativos). Este comportamiento se encuentra relacionado con los picos de fusión en DSC, mostrando que existe una mayor fusión a esas temperaturas, por lo tanto, hay un mayor descenso de la velocidad ultrasónica.

Con el objetivo de determinar si existieron diferencias significativas entre las variaciones de la velocidad ultrasónica para las muestras de montanera y manteca, se realizó un ANOVA multifactorial (FIGURA 5).

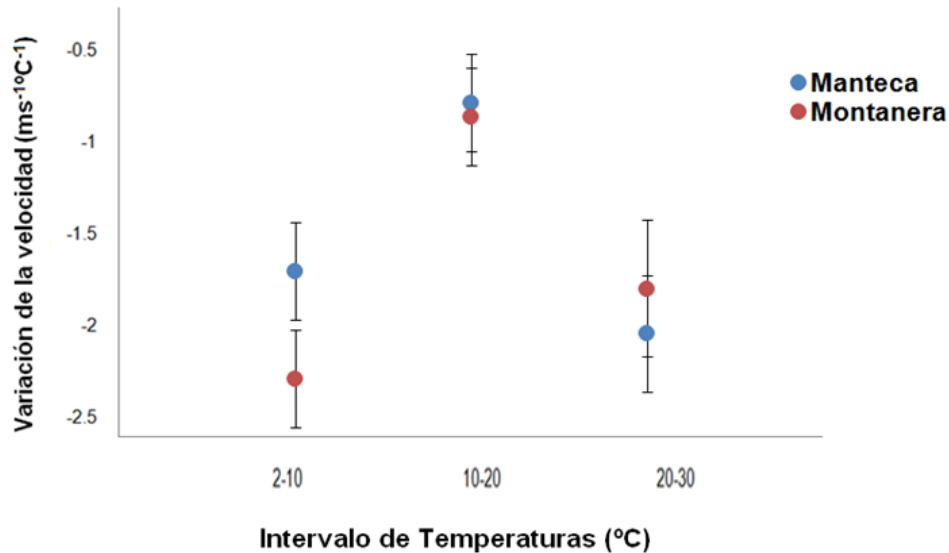


FIGURA 5. Valores medios de los coeficientes de variación de la velocidad con la temperatura e intervalos LSD ($p < 0.05$) en muestras de salchichas curadas. ANOVA Multifactorial, variable dependiente: pendiente, factores: tipo de grasa (2 niveles: Manteca y Montanera) e intervalo de temperatura (3 niveles: 2-10, 10-20 y 20-30 °C).

Para el análisis estadístico realizado (ANOVA), tanto el tipo de grasa como el intervalo de temperaturas fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$). En el rango de temperaturas de 10-20 °C y 20-30 °C no existió una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los dos tipos de grasa para la variación de la velocidad ultrasónica con la temperatura.

Para el rango de temperatura 2-10 °C se encontró una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre manteca y montanera. Las muestras de montanera presentaron una variación de la velocidad ultrasónica significativamente mayor ($p < 0.05$) (más negativa) que para la manteca. En el intervalo 2-10 °C, las muestras de montanera presentaron una mayor fusión, debido a su mayor cantidad de ácidos grasos insaturados. La mayor fusión de la fracción grasa de la montanera hace que se encuentre más líquida que la grasa de las muestras de manteca, esto hace que la velocidad de los ultrasonidos disminuya más rápidamente en este intervalo de temperatura.

Para el rango de temperatura de 10 a 20 °C, correspondiente a la sección B de las curvas de velocidad de ultrasonidos (FIGURA 4), se encontró un descenso más suave de la velocidad con la temperatura, no existiendo

diferencias significativas entre el tipo de grasa ($p < 0.05$). Como ya se ha indicado anteriormente en esta zona, hay una menor fusión de la grasa y por tanto la caída de la velocidad de ultrasonidos es inferior.

Para el rango de temperatura de 20 a 30 °C se observó un descenso más pronunciado del coeficiente de variación de la velocidad de ultrasonidos, que no conlleva una diferencia significativa para el tipo de grasa. Esto puede explicarse a partir de la curva de DSC, las muestras de manteca a pesar de presentar una mayor fusión de la grasa debido a su mayor fracción de ácidos grasos saturados, muestran unas entalpías de fusión más próximas a la montanera que las diferencias observadas para esta muestra en el intervalo 2-10°C. Así, la variación de la velocidad es mayor para la manteca pero no existen diferencias significativas con las muestras de montanera.

Relación entre las medidas de velocidad de ultrasonidos y el porcentaje de grasa fundida (% GF)

Como se menciona en la sección de Materiales y Métodos, a partir de las curvas de DSC para todas las muestras se calculó el porcentaje de grasa fundida (% GF). La FIGURA 6, muestra la relación existente entre la velocidad de ultrasonidos y el % GF con a la temperatura para todas las muestras. Se encontró una relación inversa entre el comportamiento de la velocidad de ultrasonidos y el porcentaje de grasa fundida respecto a la temperatura. Este hecho era esperable, ya que al aumentar el porcentaje de grasa en estado líquido la velocidad de ultrasonidos debe disminuir (McClements y Povey, 1988a). Así, se observaron disminuciones medias de la velocidad de ultrasonidos de 0.69 m/s para un 1 % de incremento de grasa fundida para las muestras con aceite de girasol, y de 1.95 m/s y 0.88 m/s para las que contenían Montanera y Manteca respectivamente.

De esta forma, podemos observar que a partir de los perfiles del porcentaje de grasa fundida conseguimos explicar la evolución del comportamiento de la velocidad de los ultrasonidos con la temperatura para los tres tipos de muestras. El aceite de girasol presentó una menor velocidad de ultrasonidos en todo el rango estudiado, esto es debido a que el porcentaje de grasa fundida es mayor para cualquier temperatura, por lo tanto la grasa se encontrará en un estado más líquido. La manteca mostró unos valores de velocidad de ultrasonidos mayores que los otros dos tipos de grasa. Esto es consecuencia de su estado más sólido a las temperaturas de estudio, al ser más saturada y por lo tanto, su porcentaje de grasa fundida es menor. La grasa de montanera presenta una velocidad de ultrasonidos intermedia, al ser la grasa que contiene valores intermedios de ácidos grasos saturados e insaturados y por lo tanto presentando un comportamiento intermedio en su porcentaje de grasa fundida.

Para el caso del aceite de girasol, se observó únicamente un aumento total del 20 % de grasa fundida en el intervalo de temperatura de estudio. Esto es debido a que la grasa que funde de 20 a 30 °C corresponde al 3 % de grasa propia de la carne, ya que el aceite de girasol habrá fundido a temperatura inferior, debido al carácter más insaturado de sus ácidos grasos, tal y como ya se ha comentado previamente. Así mismo, el

porcentaje de grasa fundida de manteca oscila en el rango de temperaturas estudiadas entre el 30 y el 85 %, y entre el 40 y el 100 % para la montanera.

Las muestras de montanera presentaron un mayor porcentaje de grasa fundida a 2 °C que las de manteca. Así mismo, en las muestras de manteca se alcanzó casi el 100 % de grasa fundida a 30 °C, mientras que para la manteca a ésta temperatura aun resta por fundir un 15 %. Esto es debido a su composición, ya que la montanera es más insaturada y la manteca más saturada, por lo que incluso aun alcanzando los 30 °C queda un porcentaje importante que no ha fundido.

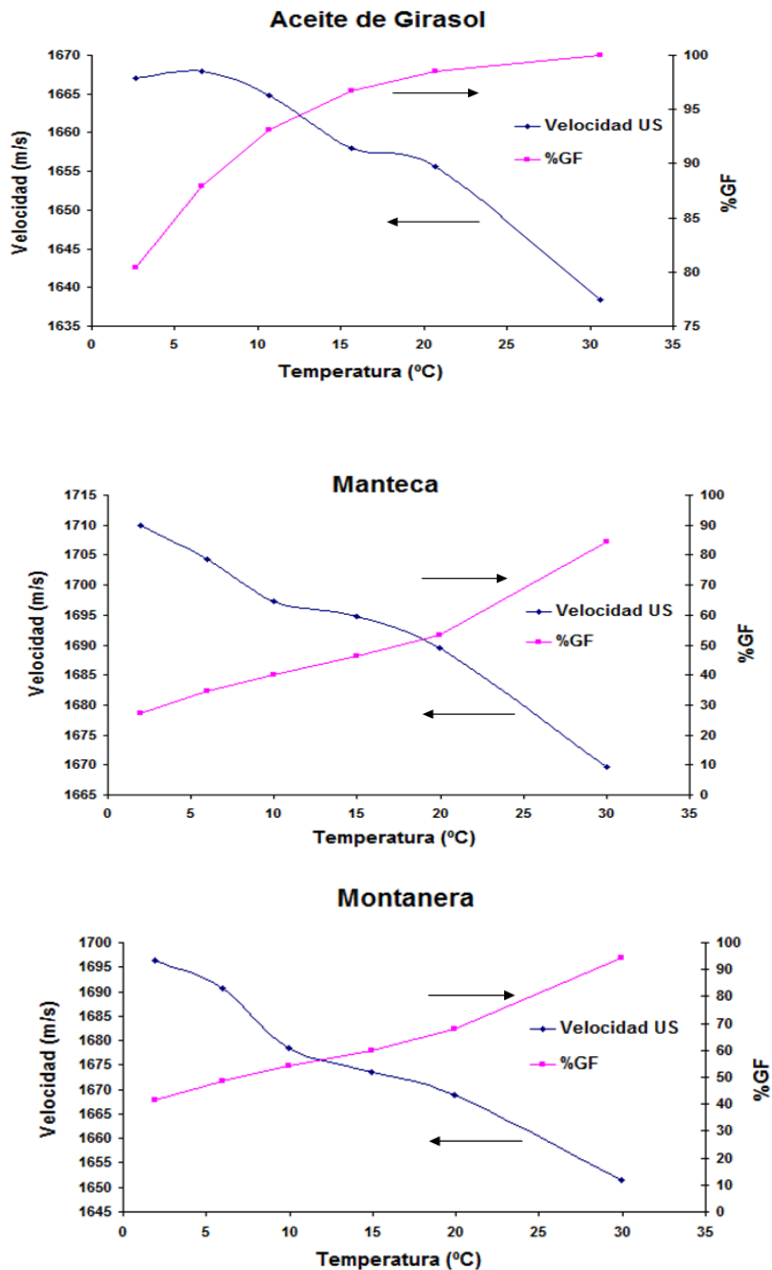


FIGURA 6. Influencia de la fusión de grasas sobre los valores de velocidad en salchichas curadas elaboradas con diferentes tipos de grasa.

En el intervalo de 2 a 10 °C la variación de grasa fundida para la manteca fue del 12.2 % y del 14 % para la montanera. Esto se correlaciona con las medidas de ultrasonidos que mostraron un mayor descenso de la velocidad ultrasónica para este intervalo de temperaturas en las muestras que contenían montanera.

Para el rango de temperaturas comprendidas de 20 a 30 °C, el incremento del % GF fue mayor para la manteca (26.6 %) y menor en montanera (23.6%), siendo en este caso la manteca la que mayor variación de la velocidad ultrasónica presentó. Estos resultados muestran que existe una relación clara entre el % GF y la velocidad de ultrasonidos.

Por último, se estableció una relación lineal significativa ($p < 0.05$) ($R^2 = 0.95$) entre las medidas de la velocidad de ultrasonidos y el porcentaje de grasa fundida como se muestra en la FIGURA 7. Singh et al. (2004) y Martini et al. (2005a) también encontraron una relación lineal entre el contenido en grasa sólida de las muestras y la velocidad de los ultrasonidos en grasas comestibles.

Por lo tanto, la velocidad de ultrasonidos se puede considerar un parámetro adecuado para monitorizar el porcentaje de grasa fundida en productos cárnicos en función de la temperatura de la muestra.

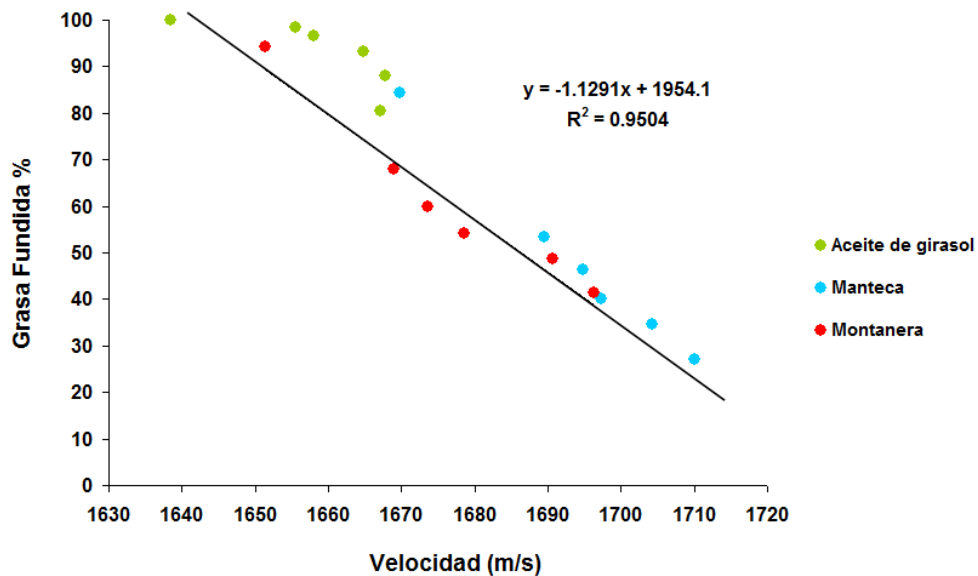


FIGURA 7. Relación entre la velocidad de los ultrasonidos y el %GF en tres tipos de salchichas curadas elaboradas con diferente tipo de grasa.

CONCLUSIONES

- Los análisis de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) permitieron la caracterización del perfil de fusión de grasas en las salchichas curadas. El comportamiento observado en las curvas de DSC se correlacionó adecuadamente con el perfil de ácidos grasos de las grasas, y su contenido en ácidos grasos saturados e insaturados.

- La velocidad de los ultrasonidos en las salchichas se vio afectada de manera significativa ($p < 0.05$) por la temperatura para todas las muestras excepto para las elaboradas a partir de aceite de girasol. La velocidad de los ultrasonidos disminuyó con la temperatura (2-30 °C) debido a la fusión de las grasas.
En las curvas de variación de la velocidad de ultrasonidos con la temperatura se identificaron tres zonas a partir de la pendiente. Las zonas de mayor descenso de la velocidad ultrasónica se correspondieron con picos de fusión (2-10 °C y 20-30 °C).
- Las salchichas elaboradas con montanera presentaron una disminución de la velocidad ultrasónica significativamente ($p < 0.05$) mayor en el intervalo de temperatura 2-10 °C, debido a su mayor índice de ácidos grasos insaturados. Por lo tanto, las medidas ultrasónicas se podrían utilizar para clasificar productos cárnicos curados según el tipo de grasa utilizado en su elaboración.
- Se encontró una relación lineal ($R^2 = 0.95$) significativa ($p < 0.05$) entre el porcentaje de grasa fundida (%GF) y los valores de velocidad ultrasónica para todas las muestras en estudio. De este modo, la velocidad de los ultrasonidos puede ser útil para estimar el porcentaje de grasa fundida de las muestras de manera rápida y no destructiva.
- Por lo tanto las medidas de velocidad de ultrasonidos en salchichas curadas envasadas a vacío podrían ser útiles para estimar el estado de fusión de la grasa, que en gran medida influye en la calidad de los productos curados.

AGRADECIMIENTOS

La autora agradece el apoyo financiero del “Ministerio de Educación y Ciencia” de España (Project AGL 2007-65923-C02-02).

Al Dr. Antonio Mulet, por creer en mí y darme la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación.

A los directores del presente trabajo. Al Dr. Jose Javier Benedito Fort y al Dr. Jose Vicente García Pérez por su paciencia, comprensión, sabiduría e infinita enseñanza.

A Oscar, por ser una gran compañía para mí y ayuda en todo momento.

Muy especialmente a mis padres y hermanos, porque todo su apoyo, amor y esfuerzos, son fuente de mis éxitos e inspiración de mi futuro. Sin ustedes nada de esto sería posible.

REFERENCIAS

- Benedito, J., Carcel, J., Rosselló, C. y Mulet A. (2001a). Composition assessment of raw meat mixtures using Ultrasonics. *Meat Science*, 57, 365-370.
- Benedito, J., Carcel, J., Gisbert, M. y Mulet A. (2001b). Quality control of cheese maturation and defects using Ultrasonics. *Food Engineering and Physical Properties*, 66, 100-104.
- Benedito, J., Mulet, A., Velasco, J. y Dobarganes, M.C. (2002a). Ultrasonic assessment of oil quality during frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4531-4536
- Cava, R. (1997). Influencia de la alimentación sobre los fenómenos oxidativos desarrollados durante la maduración del jamón de cerdo Ibérico. *Tesis Doctoral*. Universidad de Extremadura.
- Cebula, D.J. y Smith, K. W. (1992). Differential Scanning Calorimetry of Confectionery Fats: Part II- Effects of blends and minor components. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69, 992-998.
- Keller, G., Lavigne, F., Loisel, C., Ollivon, M. y Bourgaux, C. (1996). Investigation of the complex thermal behavior of fats. Combined DSC and X-ray diffraction techniques. *Journal of Thermal Analysis*, 47, 1-21.
- Le Meste, M., Cornily, G. y Simatos, D. (1984). Le comportement thermique des lipides musculaires et de dépôt chez le porc. *Revue Française des Corps Gras*, 31, 107-115.
- Loisel, C., Keller, G., Lecq, G., Bourgaux, C., y Ollivon, M. (1998). Phase transitions and polymorphism of cocoa butter. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 75, 425-439.
- Llull, P., Simal, S., Femenia, A., Benedito, J. y Rosselló, C. (2002a). The use of ultrasound velocity measurement to evaluate the textural properties of sobrassada from Mallorca. *Journal of Food Engineering*, 52, 323-330.
- Llull, P., Simal, S., Benedito, J. y Rosselló, C. (2002b). Evaluation of textural properties of a meat-based product (sobrassada) using ultrasonic techniques. *Journal of Food Engineering*, 53, 279-285.
- Martini, S., Bertoli, C., Herrera, M. L., Neeson I. y Marangoni, A. (2005a). In situ monitoring of solid fat content by means of pulsed magnetic resonance spectrometry and Ultrasonics. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 82 (5), 305-317.
- McClements, D.J. y Povey, M.J.W. (1988a). Ultrasonic velocity measurements in some liquid triglycerides and vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 65, 1787-1790.
- McClements, D.J. y Povey, M.J.W. (1988b). Investigation of phase transitions in glyceride/paraffin oil mixtures using ultrasonic velocity measurements. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 65 (11), 1791-1795
- Miles, C.A., Fursey, G.A.J. y Jones, R.C.D. (1985). Ultrasonic estimation of solid/liquid ratios in fats, oils and adipose tissue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36, 215-228.
- Mulet, A., Benedito, J., Bon, J. y Sanjuan, N. (1999a). Review: Low intensity Ultrasonics in food technology. *Food Science Technology International*, 5, 285-297.
- Mulet, A., Benedito, J., Bon, J. y Rosselló, C. (1999b). Ultrasonic Velocity in Cheddar Cheese as Affected by Temperature. *Journal of Food Science*, 64, 1038-1041.
- Mulet, A., Benedito, J., Golás, Y. y Cárcel, J. A. (2002). Noninvasive ultrasonic measurements in the food industry. *Food Reviews International*, 18, 123-133.
- Niñoles, L., Clemente, G., Ventanas, S., y Benedito, J. (2007). Quality assessment of Iberian pigs through backfat ultrasound characterization and fatty acid composition. *Meat Science*, 76, 102-111.
- Niñoles, L., Sanjuan, N., Ventanas, S. y Benedito, J. (2008). Ultrasonic and sensory characterization of dry-cured ham fat from Iberian pigs with different genetics and feeding backgrounds. *Meat Science*, 80, 896-902.
- Resa, P., Elvira, L. y Montero de Espinosa, F. (2004). Concentration control in alcoholic fermentation processes from ultrasonic velocity measurements. *Food Research International*, 37, 587-594.

Simal, S., Benedito, J., Clemente, G., Femenia, A. y Rosselló, C. (2003). Ultrasonic determination of the composition of a meat-based product. *Journal of Food Engineering*, 58, 253-257.

Singh, A.P., McClements, D.J. y Marangoni, A. G. (2004). Solid fat content determination by ultrasonic velocimetry. *Food Research International*, 37, 545-555.

Whittaker, A. D., Park, B., Thane, B. R., Miller, R. K. y Savell, J. W. (1992). Principles of ultrasound and measurement of intramuscular fat. *Journal of Animal Science*, 70, 942-952.

Winder, W.C., Aulick, D.J. y Rice, A.C. (1970). An ultrasonic method for direct and simultaneous determination of alcohol and extract content of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 21, 1-7.