

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA



ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA  
I DEL MEDI NATURAL

## APROXIMACIÓN DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS DE PATRONES LÁSER PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LA TEXTURA DE CARNE DURANTE SU MADURACIÓN

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

AUTOR: SERGIO HERNÁNDEZ TORRALBA

TUTOR: RAÚL GRAU MELÓ

DIRECTOR EXPERIMENTAL: SAMUEL VERDÚ AMAT

**CURSO ACADÉMICO: 2018-2019**

**VALENCIA, junio 2019**



# APROXIMACIÓN DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS DE PATRONES LÁSER PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LA TEXTURA DE CARNE DURANTE SU MADURACIÓN

## RESUMEN

En el presente trabajo se ha evaluado la capacidad de la técnica de imagen basada en el reconocimiento de patrones de dispersión láser para la caracterización en continuo del proceso de maduración de la carne. Esta técnica se basa en hacer incidir la luz coherente de un láser sobre la muestra, de forma que este láser interactúa con la matriz del alimento, generando patrones de luz que se analizarán ulteriormente mediante el uso de descriptores y variables obtenidas de estos patrones y de los píxeles que componen las imágenes. El hecho de ser un análisis en continuo es un aspecto de crucial importancia, dado que el proceso de maduración de la carne es un proceso dinámico y continuo. Esto es posible gracias a que se trata de una técnica no destructiva, lo que supone una gran ventaja sobre las tradicionales técnicas destructivas.

Para llevar a cabo la experiencia se utilizaron filetes de ternera de corte comercial, estos presentan una homogeneidad en su espesor. Con la finalidad de incrementar los cambios que sufre la carne durante su maduración, a un lote se le añadió superficialmente un enzima exógeno, papaína. Durante las 26 horas que duró la experiencia, se fueron tomando medidas periódicamente con la finalidad de analizar paralelamente la textura y la variación del patrón láser generado. El análisis de textura se realizó mediante el método de corte Warner-Bratzler. Para el análisis de imagen, las muestras fueron dispuestas de forma que dos láseres, no al unísono, incidían sobre la muestra. Uno dispuesto sobre la muestra con un ángulo de 45° respecto a la vertical entre la cámara y la muestra y el otro situado en la parte inferior de la muestra, en la misma vertical que la muestra y la cámara. Las imágenes tomadas registran los patrones láser y son procesadas extrayendo descriptores que las caracterizan, estos son analizados mediante análisis estadísticos multivariados y correlacionados con los resultados de textura.

Los resultados han mostrado como el análisis de patrones de dispersión láser permite caracterizar el estado de maduración de la carne, aportando información sobre su textura de una forma continua y no destructiva, siempre y cuando la disposición del láser sea en la parte inferior de la muestra y en la misma vertical que ésta y la cámara. Además, han evidenciado como la aplicación del enzima incrementa la velocidad de los cambios en la carne, pero también la formación de un gel superficial que minimiza los cambios en los patrones del láser. Aun así, los descriptores obtenidos a partir de la información procedente del análisis de imagen, así como su reducción a una sola componente principal, se han correlacionado muy bien con los valores de textura de las muestras a lo largo del estudio, tanto para las muestras sin enzima añadido como en las añadidas, describiendo estas. Esto ha permitido poder obtener modelos teóricos que pueden minimizar el efecto gel superficial de las muestras con enzima exógeno añadido, caracterizando su textura al igual que con las muestras de carne control.

**PALABRAS CLAVE:** análisis de imagen, textura, patrones láser, maduración, carne

**Autor:** Hernández Torralba, Sergio

**Tutor:** Grau Meló, Raúl

**Director experimental:** Verdú Amat, Samuel

Valencia, junio de 2019



## USE OF LASER-DIFFRACTION-FINGERPRINT TO CHARACTERIZE MEAT TEXTURE ALONG ITS MATURATION

### ABSTRACT

The capacity of the image technique based on the recognition of laser dispersion patterns for the continuous characterization of the meat maturation process has been evaluated in this paper. This technique is based on involving the coherent light of a laser on the sample, so that this laser interacts with the food matrix, generating patterns of light that will be further analyzed by using descriptors and variables obtained from these patterns and the pixels that make up the images. As the process of meat maturation is a dynamic and continuous process, the continuous analysis is a crucial aspect. This is possible because it is a non-destructive technique, which is a great advantage over traditional destructive techniques.

To carry out the experiment, commercial beef fillets were used, these have a homogeneity in their thickness. In order to increase the changes that the meat undergoes during its maturation, an exogenous enzyme, papain, was added superficially to a batch. During the 26 hours of the experiment, regular measurements were taken in order to analyze in parallel the texture and variation of the laser pattern generated. Texture analysis was performed using the Warner-Bratzler shear method. For image analysis, the samples were arranged so that two lasers, not in unison, affected the sample. One arranged on the sample at an angle of  $45^\circ$  relative to the vertical between the camera and the sample and the other located at the bottom of the sample, in the same vertical as the sample and the camera. The images taken record the laser patterns and are processed extracting descriptors that characterize them, these are analyzed by multivariate statistical analysis and correlated with texture results.

The results have shown how the analysis of laser dispersion patterns allows to characterize the maturation state of the meat. This provides information about its texture in a continuous and non-destructive way, if the arrangement of the laser is in the lower part of the sample and in the vertical between the sample and the camera. In addition, they have shown how the application of the enzyme increases the speed of changes in meat, but also the formation of a surface gel that minimizes changes in laser patterns. However, descriptors obtained from image analysis, as well as their reduction to a single main component, have been well correlated with the texture values of the samples. This applies for both samples, that is the sample without added enzyme and the sample with added enzyme. Results obtained have allowed to obtain theoretical models that can minimize the surface gel effect of samples with added exogenous enzyme, characterizing their texture as in the case of control meat samples.

**KEYWORDS:** image analysis, texture, patterns laser, maturation, meat

**Author:** Hernández Torralba, Sergio

**Academic tutor:** Grau Meló, Raúl

**Experimental director:** Verdú Amat, Samuel

Valencia, june 2019



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecer al MINISTERIO DE CIENCIA, INNOVACIÓN Y UNIVERSIDADES por la financiación parcial para la realización del presente Trabajo Final de Grado a través del proyecto de investigación de referencia RTI2018-098842-B-I00, de la convocatoria 2018, titulado “Avances en el diseño de alimentos con textura modificada (ALITEMO)”





ÍNDICE	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS .....	3
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	3
3.1 Materia prima .....	3
3.1.1 Carne.....	3
3.1.2 Enzima.....	4
3.2 Análisis de textura .....	4
3.3 Análisis de humedad .....	4
3.4 Dispositivo de captura de imagen.....	5
3.5 Procesado de datos .....	5
3.6 Análisis estadístico .....	7
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	8
4.1 Análisis textura y humedad .....	8
4.2 Análisis de imagen.....	9
4.3 Relación entre los datos de textura e imagen .....	15
5. CONCLUSIONES.....	17
6. BIBLIOGRAFÍA .....	18

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>TABLA 1</b> Resultados del análisis de la varianza mediante un ANOVA simple.	9

## ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
<b>FIGURA 1</b>	A: Representación de la disposición 1 (láser arriba). B: Representación de la disposición 2 (láser abajo).	5
<b>FIGURA 2</b>	A: Patrón de luz láser creado al incidir la luz desde arriba, difracción. B: Patrón de luz láser creado al incidir la luz desde abajo, refracción.	6
<b>FIGURA 3</b>	A: Patrón de luz láser captado en el modelo de color RGB. B: Patrón de luz láser convertido a escala de grises (8 bits, 255 valores de gris) con esquema de los descriptores directos obtenidos a partir del área ( $W_0, W_1, W_2, W_3$ y $W_4$ ). C: Esquema de los descriptores directos obtenidos a partir del umbral de color ( $\Psi_a, \Psi_b, \Psi_c$ ).	7
<b>FIGURA 4</b>	Evolución de la fuerza máxima (N) (A) y del trabajo (B) del análisis de textura de las muestras control y con tratamiento enzimático.	8
<b>FIGURA 5</b>	Representación de los valores de PC1 para el láser 1.	10
<b>FIGURA 6</b>	Representación de los valores de PC1 para el láser 2.	10
<b>FIGURA 7</b>	Representación de los valores de PC1 para el láser 1+2.	11
<b>FIGURA 8</b>	Evolución del descriptor $W_4$ a lo largo del tiempo para la muestra control y enzima, captado por el láser 2, con imágenes del patrón de luz generado por difracción láser y el área que recoge el descriptor $W_4$ para 3 tiempos ( $t=0, t=5$ y $t=26$ ).	12
<b>FIGURA 9</b>	Imágenes a la hora de estudio de muestras control (A y C) y tratadas con el enzima (B y D) tomadas con cámara fotográfica (A y B) y con lupa a 10x20 aumentos (C y D).	13
<b>FIGURA 10</b>	Representación de la localización de la luz en un medio desordenado.	14
<b>FIGURA 11</b>	Representación tridimensional del láser 2. X = valores de PC1; Y = valores de PC1; Z = valores de textura (N).	15
<b>FIGURA 12</b>	A: Modelizado de los valores del descriptor $W_4$ , de las muestras tratadas con enzima, a partir de los modelos obtenidos para las muestras control frente a los valores de textura. B: Valores de PC1 obtenidos por imagen frente a los calculados a partir del modelo.	16
<b>FIGURA 13</b>	Modelizado de los valores del descriptor $W_4$ (A) y de la PC1 (B), de las muestras tratadas con enzima, a partir de los modelos obtenidos para las muestras control.	16
<b>FIGURA 14</b>	Relación entre el comportamiento de las muestras enzima predicho y observado para el descriptor 4 (A) y para la PC1 (B).	17

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el sector industrial busca una mejora continua de la calidad y la seguridad. Esta mejora continua de la calidad persigue como objetivo principal aumentar la satisfacción del cliente alcanzando sus expectativas y de esta forma abrirse paso en un mercado tan exigente y competitivo como es el mercado actual (Greensill y Newman, 1999; Lim y Antony, 2016). Para ello es crucial incrementar la eficiencia del control de procesos. Una medida para lograr este incremento en la eficiencia sería la implantación de mecanismos automáticos de detección de control de procesos. Los objetivos que se buscan con ello son reducir el tiempo y el gasto (Adebayo *et al.*, 2016). Distintas alternativas para lograr esta mejora pueden ser tanto la sustitución de técnicas y métodos tradicionales por procesos más modernos como la evolución de estas técnicas tradicionales. Una propuesta de esta tecnología engloba a las técnicas no destructivas, con las que se consigue mantener intactas e inalteradas las muestras. Esta tendencia, al igual que en otros sectores, cobra gran importancia en la industria alimentaria, donde poder monitorizar y controlar variables fisicoquímicas, estructurales o la composición de la materia prima en línea de forma continua puede ser un aspecto decisivo. Además, estos procesos aportan flujos de información muy elevados en muy poco tiempo (Verdú *et al.*, 2019). Ejemplos de estas técnicas de caracterización no destructivas podrían ser técnicas basadas en propiedades eléctricas (Ahmed *et al.*, 2007; Hlavacova, 2003; Basaran *et al.*, 2010), ultrasonidos (Mizrach, 2007), narices electrónicas (Dutta *et al.*, 2003), lenguas electrónicas (Men *et al.*, 2008), resonancia magnética nuclear (NMR) (Chen *et al.*, 1993), etc.

Dentro del análisis de imagen existe una gran variedad de métodos, pero en general todos presentan ventajas importantes, como son la capacidad de automatización del proceso y análisis in-line y la posibilidad de detectar propiedades muy específicas de forma simultánea (abaratando costes y tiempo). Otra ventaja es que las herramientas de imagen pueden integrarse en técnicas que no funcionen mediante imagen, combinándose y mejorando estas (Chen *et al.*, 2013).

Existen multitud de estudios y aplicaciones en los que se usan este grupo de técnicas no destructivas: imagen hiperespectral, detección de defectos en manzanas (Mehl *et al.*, 2002); resonancia magnética, determinación de la maduración en frutas (Clark and MacFall, 2003); rayos X, detección de raspas en filetes de pescado (Mery *et al.*, 2011); ultrasonidos por imagen, detección de cambios fisicoquímicos y variación de densidad en productos lácteos (Gan *et al.*, 2006); imagen térmica, detección de calidad en carne (Costa *et al.*, 2007); imagen de fluorescencia, estudio de la distribución de grasa en cerdo (Adedeji *et al.*, 2011); imagen por olor, frescura en carne y pescado (Salinas *et al.*, 2011), etc.

El análisis de patrones de dispersión láser es una de las muchas herramientas no destructivas de análisis por imagen. Consiste en hacer incidir la luz coherente de un láser sobre la muestra, de forma que este láser interactúa con la matriz del alimento, generando patrones de luz que se analizarán ulteriormente mediante el uso de descriptores y variables obtenidas de estos patrones y de los píxeles que componen las imágenes. Esta técnica presenta las ventajas mencionadas anteriormente para las no destructivas, y además cuenta con una ventaja fundamental, y es su reducido coste económico (Fulladosa *et al.*, 2017). Esta tecnología se ha utilizado en campos tan variados como es el campo de la medicina, para la determinación del volumen y de la concentración de hemoglobina (Tycko *et al.*, 1985), la odontología, para la detección de caries (Darling *et al.*, 2006) o la astrofísica, para la determinación de pequeñas partículas procedentes de rocas espaciales (Maconi *et al.*, 2018), así como últimamente en el de los alimentos, en procesos de agricultura y alimentarios (Adebayo *et al.*, 2016), determinación del contenido en sólidos solubles y firmeza en manzanas (Qing *et al.*, 2008), detección de daños por frío en plátanos (Hashim *et al.*, 2013), modelización de cambios que influyen en la calidad de manzanas (Chen *et al.*, 2006), evolución del estado de madurez en tomate (Tu *et al.*, 2000),

etc. En el sector de la carne y productos cárnicos se están realizando estudios preliminares en la evaluación de la frescura en carne de cerdo (Li *et al.*, 2016); contenido de agua y proteólisis en jamón curado (Fulladosa *et al.*, 2017), etc.

De manera análoga al resto de sectores alimentarios, el sector de la carne también persigue una mejora continua de la calidad, fruto del avance de nuevas técnicas de análisis no destructivas, que permitan un análisis en continuo de forma económica y rápida. La calidad de la carne viene definida por dos parámetros, la materia prima y la maduración. Este fenómeno se debe a los cambios producidos en el músculo desde el rigor mortis. Estos cambios son producidos por la actividad enzimática, que degrada las proteínas musculares de forma continua. La actividad enzimática provoca en la carne cambios de textura, aroma y color, afectando a sus características organolépticas y suponiendo un motivo clave para la aceptación o desaprobación del cliente, pudiendo de esta forma alcanzar sus expectativas o crear rechazo hacia el producto. Este proceso se lleva a cabo principalmente por proteasas de tipo endopeptidasas, entre las que destacan las calpaínas y las catepsinas. Las calpaínas son proteasas cisteínicas intracelulares, calcio dependientes. Mientras que las catepsinas son proteasas ácidas, localizadas en los lisosomas. Estas son liberadas tras una disrupción lisosomal, debido a una caída del pH (Chéret *et al.*, 2007). Cuando ambas se encuentran presentes se produce un proceso sinérgico que degrada principalmente las proteínas miofibrilares y en menor medida las sarcoplásmicas, generando fragmentos proteicos y peptídicos que servirán de sustrato a las exopeptidasas (López, 2015). Como consecuencia de estos cambios se produce una mejora de la calidad sensorial provocada por una intensificación del sabor y un incremento en la ternura de la carne a medida que avanza el proceso madurativo.

Existen múltiples técnicas para evaluar la maduración o ternura de la carne, aunque generalmente este análisis se lleva a cabo por medio de técnicas de análisis de textura directos. Así, se puede determinar mediante distintos ensayos, como puede ser el de corte, donde se mide la fuerza (N) necesaria para cortar un trozo de carne. Esta incisión puede llevarse a cabo mediante distintos métodos de corte, como Warner-Bratzler (descrito por varios autores: Naveena *et al.*, 2004; Barekat y Soltanizadeh, 2017; Ashie *et al.*, 2002) o la hoja de cuchilla Meullenet-Owens (descrito por Lee *et al.*, 2008), para los cuales se utiliza una única cuchilla o Allo-Kramer (descrito por Cavitt *et al.*, 2004), que utiliza una celda compuesta por 9 o 10 cuchillas, con el propósito de simular la mordida. Dos de los parámetros más habituales de estudio para estos métodos son la fuerza máxima y el trabajo. Otro ensayo utilizado es el análisis del perfil textural (TPA), mediante el cual se mide la fuerza de compresión desarrollada por el texturómetro cuando se comprime una pieza de carne (De Huidobro *et al.*, 2005). También es posible evaluar la textura de la carne mediante un ensayo de punción mediante aguja (descrito por Cavitt *et al.*, 2004, donde se utilizó una aguja de 2 mm de diámetro). Por otro lado, algunos ejemplos de técnicas de análisis que no se basan en la textura de forma directa son la molienda (Kamdem y Hardy, 1995), análisis del marmoleo de la carne (Shiranita *et al.*, 1998), determinación de colágeno (Christensen *et al.*, 2011; Light *et al.*, 1985), etc.

Por consiguiente, la textura es para muchos autores (Fu, 2016; Ashie *et al.*, 2002; Cluff *et al.*, 2008; Choi *et al.*, 2006) uno de los atributos de calidad más importantes en la carne para el consumidor. Tanto es así, que en algunas ocasiones se realiza un proceso de tenderización, con el objetivo de ablandar la carne y satisfacer las necesidades del consumidor. Una de las técnicas más comunes para llevar a cabo esto es la adición de enzimas proteolíticas, como pueden ser la papaína o bromelina.

En el caso de la papaína, provoca una hidrólisis proteica que acelera la maduración de la carne, ya que rompe el enlace peptídico que une las proteínas, generando péptidos de menor tamaño o incluso aminoácidos libres e hidroxiprolina (Istrati, 2008), un aminoácido no esencial

que protege frente a ataques de microorganismos externos y que es necesario para la síntesis de colágeno (Jenkins *et al.*, 2003).

Otra característica a destacar de este enzima es que es estable al calor y muy difícil de inactivar, lo que permite una textura continua de la muestra tras el cocinado. Esto se debe a que su temperatura óptima de actividad se sitúa entre 65 y 80 °C (Barekat y Soltanizadeh, 2017; Calkins y Sullivan, 2007). Además, tiene un amplio intervalo de acción, por lo que descompone indiscriminadamente las principales proteínas musculares (tejido conjuntivo (colágeno principalmente) y proteínas miofibrilares) (Ashie *et al.*, 2002; Calkins y Sullivan, 2007).

Este proceso de tenderización se lleva a cabo, porque además de existir un rechazo por parte de la población hacia la carne de elevada dureza, en la actualidad, existe un gran número de personas que no pueden consumir carne a no ser que esta sea muy tierna. Uno de los sectores más damnificados es el de las personas de edad, ya que a medida que el ser humano se hace mayor sufre una atrofia de los músculos de la masticación, lo que, sumado a una pérdida de piezas dentarias, imposibilita por completo el consumo de carne salvo que esta cuente con una textura adecuada. Otra de las patologías más comunes que limitan el consumo de carne excesivamente dura es la disfagia. La disfagia es un trastorno que afecta a la habilidad para tragar (González y Bevilacqua, 2009), dificultando la formación del bolo alimenticio. Este trastorno puede ser provocado por multitud de causas, como pueden ser un accidente cerebrovascular, problemas neurológicos, presencia de tumores en la garganta, traqueotomías o enfermedades degenerativas como el Alzheimer o el Parkinson, por lo que es un problema habitual de nuevo en personas mayores, llegando a alcanzar una incidencia entre el 50-65% en ancianos (SEGG, 2006).

Por tanto, el hecho de poder evaluar la textura de la carne y poder determinar incluso sus rangos de textura puede ser interesante tanto para el sector social, empresarial como científico.

## **2. OBJETIVOS**

El objetivo general de este estudio es evaluar la capacidad de la técnica de imagen basada en el reconocimiento de patrones de dispersión láser para la caracterización en continuo del proceso de maduración de la carne.

Además, como objetivo secundario, se persigue el estudio de la evolución textural sobre un grupo de muestras control y un grupo de muestras con acción enzimática añadida exógenamente, para obtener información de forma no destructiva y modelos de predicción de calidad.

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1 Materia prima**

#### **3.1.1 Carne**

Se utilizaron 5 lotes distintos de filetes de carne de ternera (60 muestras) adquiridos de un supermercado local, ya que estos productos suministrados de forma industrial presentan espesores homogéneos. Dichos lotes fueron recombinados en bandejas con el fin de abordar la variabilidad entre individuos, congelándose a -20°C. Antes de cada experiencia, los filetes fueron descongelados en refrigeración durante 24 horas. Los filetes se cortaron en piezas de 60 mm x

60 mm × 7 mm. Para asegurar unas dimensiones homogéneas se utilizó un molde metálico cuadrado de cocina de 60 × 60 mm.

De las 60 muestras, 30 fueron utilizadas en el estudio de imagen y las 30 restantes para el estudio de imagen y textura. Para este último, a cada toma de muestra se retiraron 3 muestras control y 3 con tratamiento de enzima.

### **3.1.2 Enzima**

Con el objetivo de hacer más visibles y acelerar cambios en la evolución de la maduración y la textura de la carne se añadió un enzima de origen natural. Este enzima fue la papaína (Biocon, Les Franqueses del Vallés, España), un enzima proteolítico (Ionescu *et al.*, 2008) con acción tanto endopeptidasa como exopeptidasa.

La aplicación del enzima se realizó espolvoreando de forma homogénea un 1% (p/p) sobre la superficie de la carne.

### **3.2 Análisis de textura**

La textura de la carne se caracterizó mediante el método de corte Warner-Bratzler descrito por varios autores (Naveena *et al.*, 2004; Barekat y Soltanizadeh, 2017; Ashie *et al.*, 2002). La experiencia se realizó en un analizador de textura TA-TX2 texture analyzer (Stable Micro Systems, Surrey, UK), equipado con una célula de carga de 25 kg. El software empleado fue Exponent (Stable Micro Systems Ltd, version 6.1.11.0) y los parámetros estudiados fueron fuerza máxima positiva y área de trabajo positiva.

Para realizar el estudio de textura se cortó cada muestra en dos partes y se realizaron 2 medidas de cada parte, obteniendo de este modo 4 medidas por muestra. El objetivo de este procedimiento para el método de muestreo fue abordar la variabilidad dentro de cada muestra y obtener 4 medidas de cada muestra, de las cuales se obtuvo el valor promedio. De esta manera se intentó caracterizar la textura de la carne de una forma representativa y con el menor error posible, ya que como es importante destacar, la variabilidad en la carne es extremadamente alta.

La toma de muestra se realizó a las 0, 1, 3, 5 y 26 horas del tratamiento con el enzima.

### **3.3 Análisis de humedad**

La determinación de humedad se llevó a cabo mediante el método por secado en estufa con circulación forzada de aire a presión atmosférica descrito por la AOAC International en Official Methods of Analysis y por varios autores (García y Fernández, 2012; Nielsen, 2010).

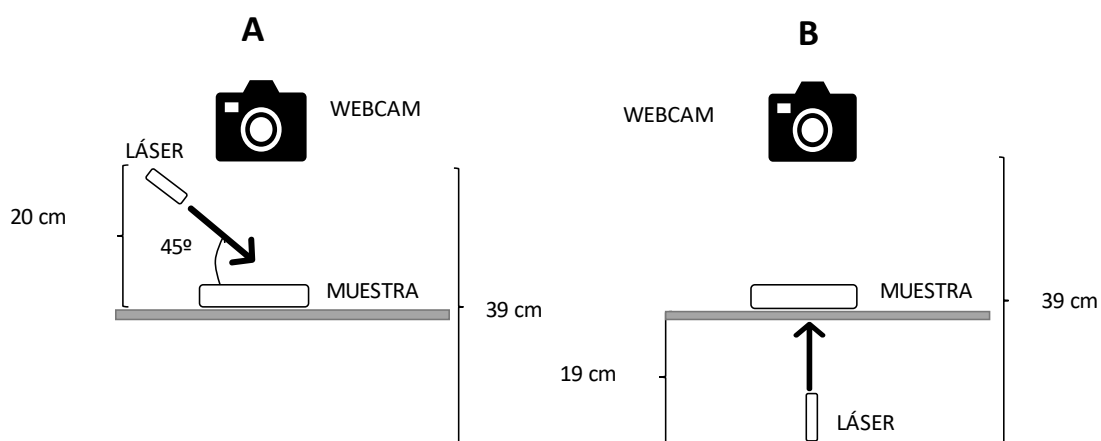
Tras transcurrir las 24 horas de estudio de las muestras, estas fueron introducidas en la estufa a 101 °C con el objetivo de provocar la evaporación de agua y así poder obtener el porcentaje de agua de cada muestra y estudiar posibles diferencias entre muestras control y con adición de enzima. Al cabo de unas horas, una vez estabilizado el peso se extrajeron de la estufa y se calculó el peso final.

El análisis se realizó sobre muestras a tiempo 0 y al final de la experiencia.

### 3.4 Dispositivo de captura de imagen

Se dispuso de dos cámaras que impedían el paso de luz, en las que se instaló un dispositivo capturador de imagen (Logitech C922 Pro Stream Webcam) y un láser de diodo de alineación que emitía luz coherente (Fulladosa *et al.*, 2017) de color rojo (650 nm) (Li *et al.*, 2016) con una potencia de 50 mW. La ventaja de la luz coherente radica en que está es constante tanto en longitud de onda, como en dirección, como en fase, siendo esto un aspecto clave para la monitorización. Como recipiente transparente de la muestra se utilizaron placas Petri, las cuales se colocaban sobre un soporte metálico.

Cabe distinguir entre las dos disposiciones que se utilizaron en el experimento, cada una en una cámara, aunque presentaban las mismas características. La primera disposición de los elementos se corresponde con la representada en la figura 1A, donde el láser se situó encima de la muestra, y que incidía con un ángulo de unos 45° sobre la muestra. Mediante esta disposición se estudió el fenómeno físico de la difracción, ya que la luz emitida por el láser chocaba con la superficie de la muestra y salía difractada. La segunda colocación de la cámara consistía en situar el láser abajo, coincidiendo con la muestra y la cámara en la misma vertical, de forma que la luz atravesaba la parte central de la muestra, estudiándose por tanto el fenómeno de refracción (figura 1B).



**FIGURA 1.** A: Representación de la disposición 1 (láser arriba). B: Representación de la disposición 2 (láser abajo).

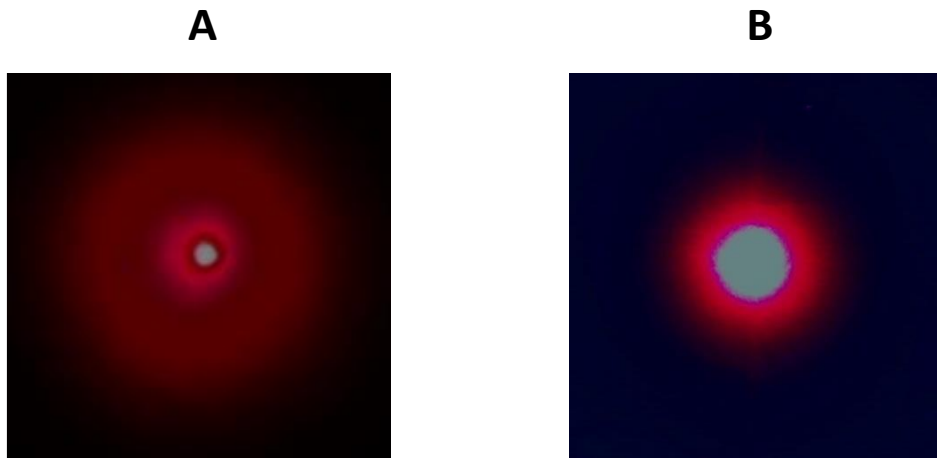
Para ambas disposiciones la cámara captaba los patrones de luz formados por el láser (figura 2) al interactuar con la matriz del alimento, de modo que estos patrones variaban con el tiempo. Se tomaron imágenes a cada tiempo de toma de muestras (0, 1, 3, 5 y 26 horas). Estas imágenes se tomaron con el modelo de color RGB. El láser se activaba en el momento de la toma de imágenes y se desactivaba al terminar esta.

La distancia entre el láser y la muestra fue elegida con el objetivo de favorecer la máxima obtención de información posible. Esta distancia fue de 20 cm para la primera cámara y de 19 cm para la segunda, como se muestra en la figura 1. Estas distancias fueron similares a las descritas por Verdú *et al.* (2019).

### 3.5 Procesado de datos

Tras la captura, recogida y agrupación de imágenes se realiza el análisis de patrones de dispersión láser característicos (figura 2), estudiando entre otros el pico máximo de intensidad

generado en el centro de la muestra, y los anillos generados diametralmente, así como la relación entre ellos.



**FIGURA 2.** A: Patrón de luz láser creado al incidir la luz desde arriba, difracción. B: Patrón de luz láser creado al incidir la luz desde abajo, refracción.

Para llevar a cabo este análisis se aíslan las zonas de cambio, y se comparan con el patrón a tiempo 0, fijando el número de píxeles. Para llevar a cabo dicho procesado se utilizó un software desarrollado por el grupo de trabajo (Verdú *et al.*, 2019). El procesado de las imágenes hasta la obtención de los descriptores que las caracterizan se realizó siguiendo el siguiente esquema:

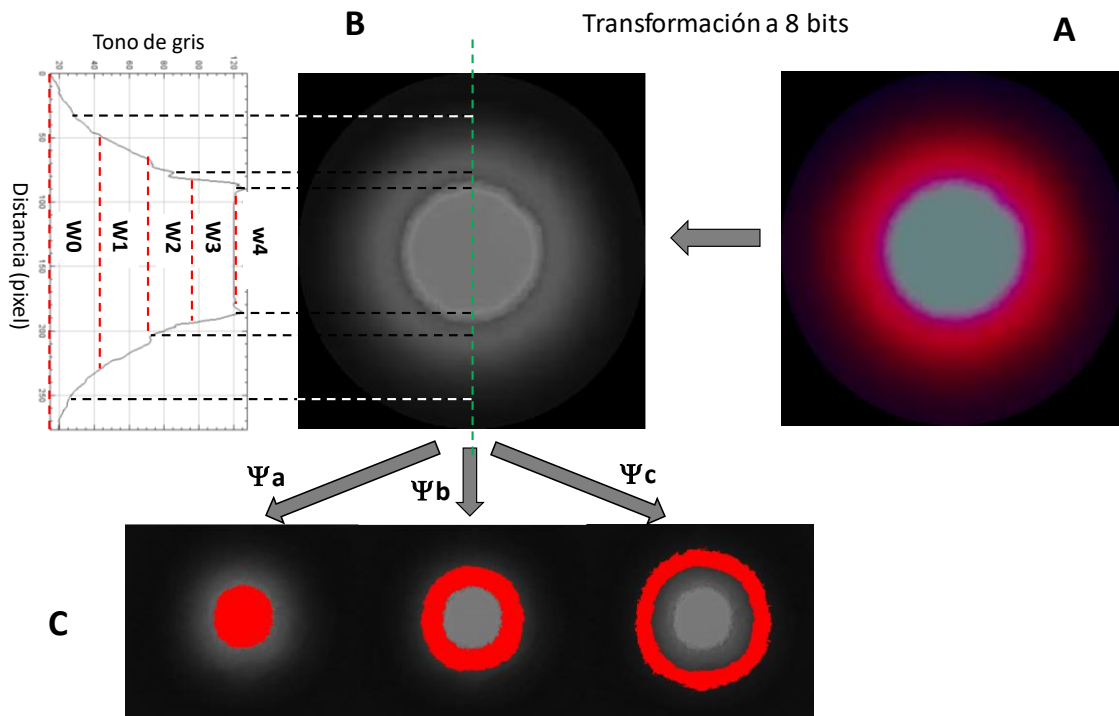
1. Selección de la zona de interés y recorte.
2. Conversión a escala de grises: Con la finalidad de reducir el volumen de información de las imágenes estas se convierten de RGB a escala de grises (8 bits, 255 valores de gris).
3. Segmentación: donde las diferentes zonas de la morfología del patrón láser se delimitan con diferentes valores de gris (como se explica a continuación) y se mide el número de píxeles. La figura 3 a modo de ejemplo muestra un patrón de láser capturado. Las imágenes muestran un patrón de difracción típico, donde se genera un pico de intensidad máxima en el medio, comúnmente conocido como el disco Airy, con anillos concéntricos cuyo tamaño aumenta a medida que disminuye su intensidad. Estos anillos son conocidos como interferencias constructivas y destructivas. Este patrón sigue las propiedades reportadas en otros estudios, donde esta técnica fue utilizada para estudiar diferentes matrices de alimentos (Adebayo *et al.*, 2016; Mollazade *et al.*, 2013; Verdú *et al.*, 2019). Los descriptores de imagen desarrollados fueron delimitados a partir de la morfología visual, y se dividieron en dos grupos (directos y relativos) según su procedimiento de extracción. El grupo de los descriptores directos representan valores absolutos de las áreas del patrón láser (figura 3) y se definen como:

- A: recoge el área de píxeles correspondiente al patrón de luz completo.
- $\Psi_a$ ,  $\Psi_b$  y  $\Psi_c$ : recoge el área de píxeles correspondiente al patrón de luz completo, tomando solamente información de la escala de gris que comprende valores entre 101-255, 51-100 y 0-50, respectivamente.

El grupo de los descriptores relativos representan la parte proporcional de la totalidad del área de píxeles establecida a diferentes niveles:



- $W_0, W_1, W_2, W_3$ : recoge, el área dada por el 20, 40, 60 y 80% de la altura del patrón de luz.
- $W_4$ : recoge el diámetro dado por la altura máxima del patrón de luz.



**FIGURA 3.** A: Patrón de luz láser captado en el modelo de color RGB. B: Patrón de luz láser convertido a escala de grises (8 bits, 255 valores de gris) con esquema de los descriptores directos obtenidos a partir del área ( $W_0, W_1, W_2, W_3$  y  $W_4$ ). C: Esquema de los descriptores directos obtenidos a partir del umbral de color ( $\Psi_a, \Psi_b, \Psi_c$ ).

### 3.6 Análisis estadístico

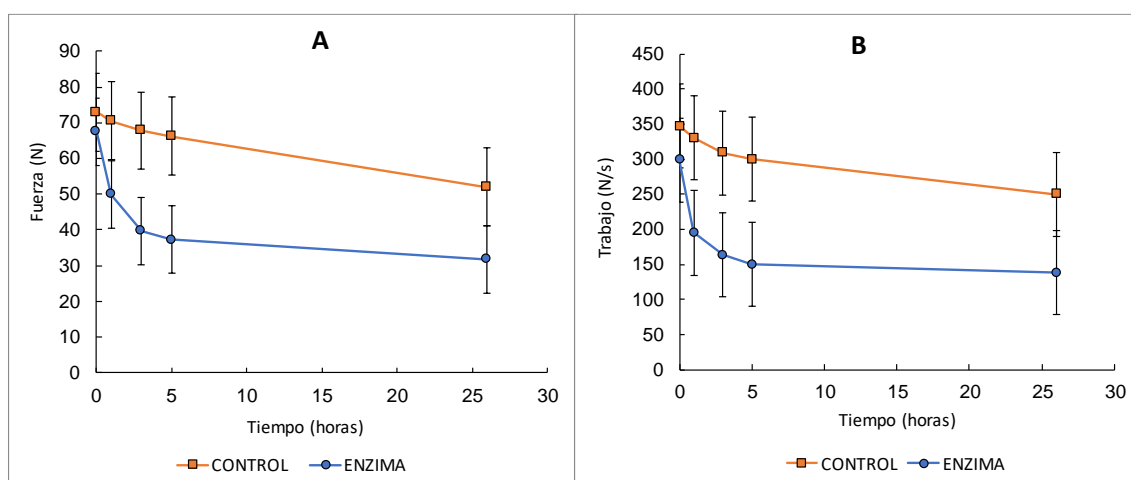
Los resultados procedentes del análisis de textura, humedad y del descriptor  $W_4$  se analizaron estadísticamente a través de un análisis de la varianza ANOVA multifactorial para determinar si existían diferencias significativas generadas por los factores tiempo, enzima y su interacción. El software utilizado fue Statgraphics Centurion XVII.11 versión 17.2.04. Se empleó un intervalo de confianza del 95% y un valor de  $p < 0,05$  estadísticamente significativo para todos los análisis.

Dada la gran cantidad de datos obtenidos a partir de los descriptores generados del análisis de las imágenes, estos se procesaron mediante el análisis multifactorial de Componentes Principales (PCA) reduciendo de esta forma la dimensionalidad, comparándose la varianza recogida y la agrupación espontánea de las muestras. El análisis de componentes principales o PCA es un método estadístico multivariado usado generalmente para reducir la dimensionalidad de un conjunto de variables cuantitativas para obtener un número reducido de nuevas variables llamadas componentes principales (PC) que son el resultado de la combinación lineal de algunas de las variables originales. Para realizar este estudio se usó la herramienta PLS Toolbox 6.3 (Eigenvector Research Inc., Wenatchee, Washington, USA), una extensión en el ambiente computacional R2012a (The Mathworks, Natick, Massachusetts, USA).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Análisis textura y humedad

Una vez realizados los estudios y analizados los datos obtenidos se observó como la textura de las muestras fue cambiando a lo largo del tiempo de estudio (figura 4). Los análisis mostraron como tanto los valores de fuerza máxima (figura 4A) como el trabajo (figura 4B), necesarios para producir el corte de las muestras, fueron cada vez menores. Este resultado mostraría como las muestras durante el tiempo de estudio se reblandecen, es decir incrementan su terneza. Concretamente las muestras que más disminuyeron los valores de textura fueron las que contenían el enzima, de forma similar a lo descrito por Abdel-Naeem y Mohamed (2016) y Ashie *et al.* (2002). Esta reducción de textura se debe a que la papaína provoca una ruptura del tejido conectivo y de las proteínas miofibrilares, como consecuencia de la ruptura del enlace peptídico que une estas proteínas (Barekat y Soltanizadeh, 2017). Esta actividad sería mayor que la propia generada por los enzimas endógenos de la carne, calpaínas y catepsinas, las cuales serían las responsables de la degradación de la muestra control (Chéret *et al.*, 2007; Dransfield y Sosnicki, 1999).



**FIGURA 4.** Evolución de la fuerza máxima (N) (A) y del trabajo (N/s) (B) del análisis de textura de las muestras control y con tratamiento enzimático.

Si bien ambos conjuntos de muestras tuvieron valores estadísticamente iguales a tiempo 0, con el paso del tiempo el comportamiento fue diferente. Las muestras control sufrieron un descenso de la dureza progresivo, variando los valores de fuerza máxima requerida para cortar la muestra desde los 73,01 N a los 51,94 N, es decir una variación del 29% N tras 26 horas de estudio. En cambio, las muestras con adición de enzima, para el mismo tiempo, pasaron de valores de 67,59 N a 31,75 N, lo que supuso un descenso del 53%. Pero de este descenso, el 77% se dio durante las primeras 3 horas y siendo en el caso del trabajo del 84,23 %. Estos resultados cuantifican la mayor actividad enzimática de la papaína con respecto a las catepsina y calpaína propias de la carne (Calkins y Sullivan, 2007).

Evaluando los resultados estadísticamente, a las 3 horas ya se observan diferencias significativas para ambos grupos de muestras como muestran los intervalos LSD (Least-Significant-Difference) o diferencia mínima significativa, siendo la diferencia entre ambas de 28,03 N de fuerza máxima y 145,39 N/s de trabajo. A partir de este tiempo, las diferencias van disminuyendo, sucediendo una aproximación de ambos conjuntos de muestras, hasta llegar a las 26 horas, donde desaparecen de nuevo las diferencias significativas para los valores de trabajo y ambos grupos rozan la igualdad estadística para la fuerza máxima dada la dispersión de los valores obtenidos.

Esta tendencia se debe a que el proceso de maduración de la carne es un proceso dinámico, donde la actividad enzimática que actúa sobre ella lo hace de forma continuada y a que mediante la adición de papaína se logra la aceleración y el incremento de unos cambios que ocurren de forma natural en la carne, pero más lentos y atenuados.

Un aspecto importante que comentar es el hecho de que estos valores presenten errores típicos tan altos, reflejados en las gráficas en unas barras de error moderadamente amplias, provocadas por la dispersión de los resultados. Esto se debe a la variabilidad de cada muestra y a la variabilidad dentro de cada porción de muestra. Esta variabilidad de la carne viene dada principalmente por la presencia variable de tejido conectivo, formado por colágeno y elastina. En primer lugar, es importante destacar que la ternura de la carne es el resultado de la debilidad de las miofibrillas y el tejido conectivo intramuscular (Ashie *et al.*, 2002; Fu, 2016). La dureza de este tejido conectivo depende de la cantidad, del tipo y de las uniones de los enlaces cruzados entre las células de colágeno, fenómeno que se acentúa en carnes de animales de elevada edad, aumentando su dureza (Ionescu *et al.*, 2008; Ashie *et al.*, 2002). Además, la solubilidad del colágeno tiene una gran influencia sobre la textura, ya que existe una correlación positiva entre la ternura de la carne y la solubilidad del colágeno (Fu 2016). Por añadidura, si el corte se produce en una muestra con abundante tejido conectivo y por tanto abundante colágeno, esta presentará más resistencia al corte, que si este se produce en una muestra abundante en tejido graso.

Dado que durante el madurado de la carne se produce una degradación de las proteínas miofibrilares que provoca una reducción de su capacidad para retener agua (Fulladosa *et al.*, 2017), se analizó la cantidad agua de las muestras antes y después de la maduración con o sin tratamiento enzimático con papaína (Tabla 1). Esta degradación proteica es consecuencia de la actividad enzimática de la calpaína y catepsina.

**TABLA 1.** Valores medios de humedad, desviación estándar y resultados del análisis de la varianza ANOVA simple. Los resultados obtenidos del test de LSD se muestran en forma de letras, relacionando las letras iguales con los resultados estadísticamente iguales.

Tipo de muestras	Media
MUESTRA (0 horas)	74,80±0,44 a
CONTROL (26 horas)	74,60±0,26 a
ENZIMA (26 horas)	73,45±0,25 b

Los resultados mostraron como las muestras control no variaron estadísticamente su contenido en agua durante la experiencia (26 horas). Sin embargo, si existieron diferencias significativas para las muestras tratadas con enzima, si bien el descenso fue leve (1.35%).

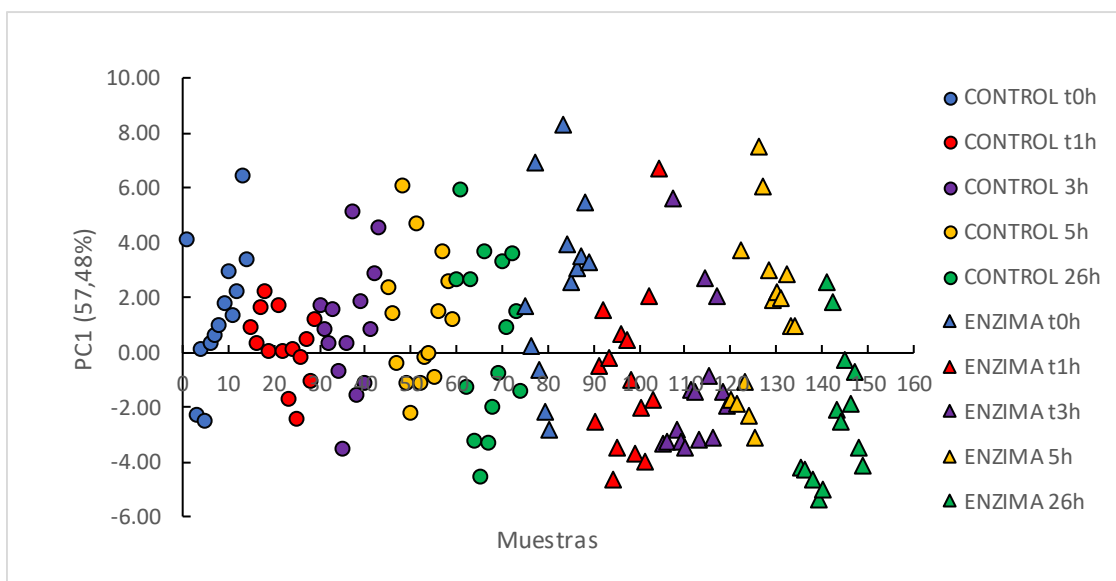
En base a estos resultados, la variación en la textura no vendría ligada a la pérdida de agua ya que las muestras control, sin pérdida de agua, experimentaron con el tiempo un incremento en los valores de ternura. Además, si una mayor pérdida de agua está ligada con una mayor dureza (Ruiz-Ramírez *et al.*, 2005; Serra *et al.*, 2005), las muestras tratadas con enzima deberían de haber tenido una menor ternura.

## 4.2 Análisis de imagen

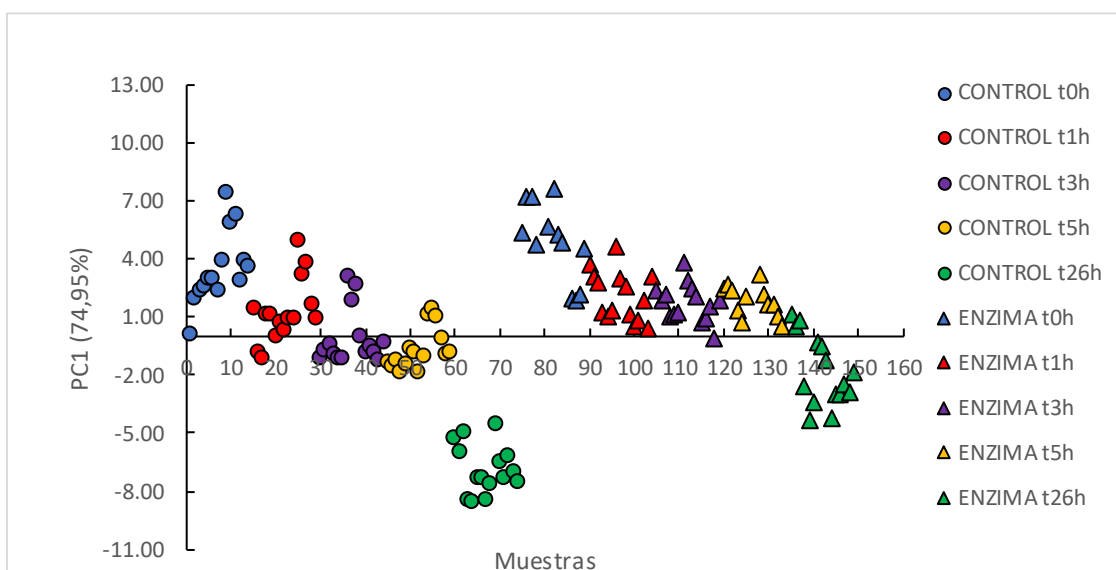
Tras la toma de imágenes para ambos láseres, y su posterior procesado, se obtuvieron los descriptores. Estos se estudiaron globalmente mediante un análisis multivariante de PCA, con el

fin de poder agrupar las variables (descriptores) y reducir la dimensionalidad. Este estudio se realizó primero teniendo en cuenta los láseres por separado y luego en su conjunto (L1 + L2).

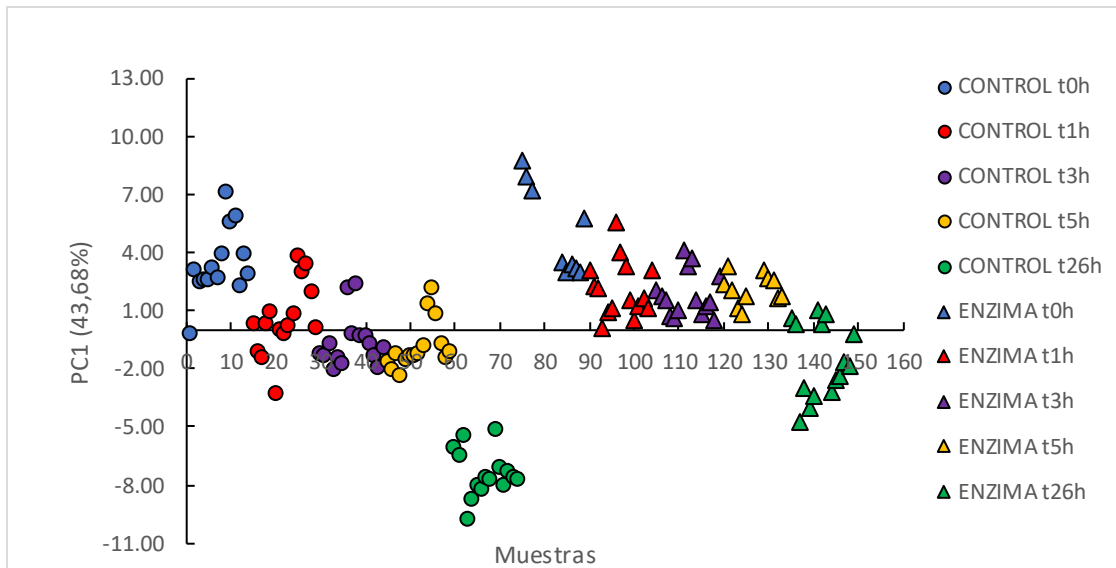
El análisis de componentes principales mostró una agrupación espontánea de los datos en dos componentes, PC1 y PC2, recayendo sobre la componente principal 1 la mayor parte de la varianza (figura 5, 6 y 7). En el caso del láser 1, el cual incide sobre la muestra con un ángulo de 45°, mostrando el fenómeno físico de difracción, la PC1 (57,48% de la varianza total) no mostró ninguna tendencia en la agrupación de las muestras (figura 5), no evidenciándose el efecto de la maduración propia de la carne ni del enzima añadido. En cambio, tanto para el láser 2 (74,95% de la varianza total) (figura 6), el cual atraviesa la muestra desde abajo describiendo un patrón de refracción, como la suma de la información procedente de ambos láseres (43,68% de la varianza total) (figura 7), si mostraron una tendencia en la agrupación de las muestras, las cuales con el transcurso del tiempo presentaron menores valores de PC1, siendo en ambos el descenso más acusado para las muestras control (sin enzima añadido).



**FIGURA 5.** Representación de los valores de PC1 para el láser 1.



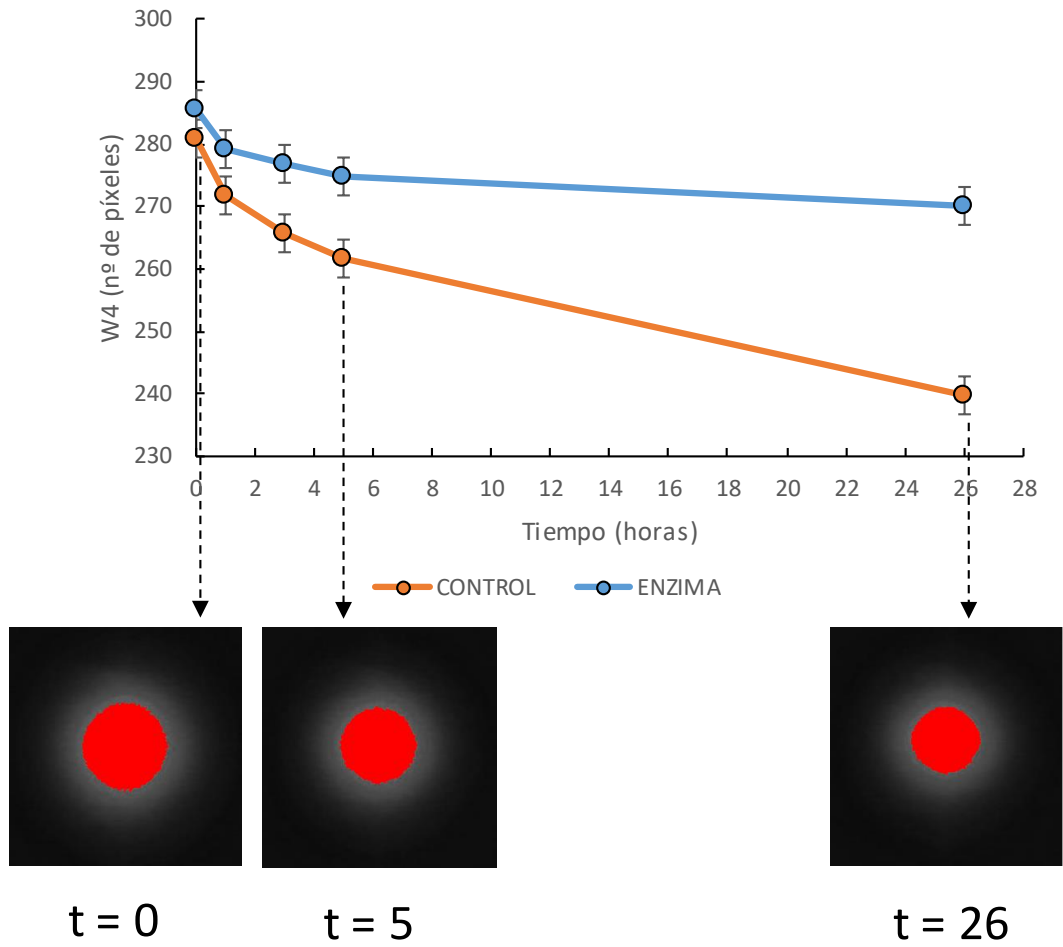
**FIGURA 6.** Representación de los valores de PC1 para el láser 2.



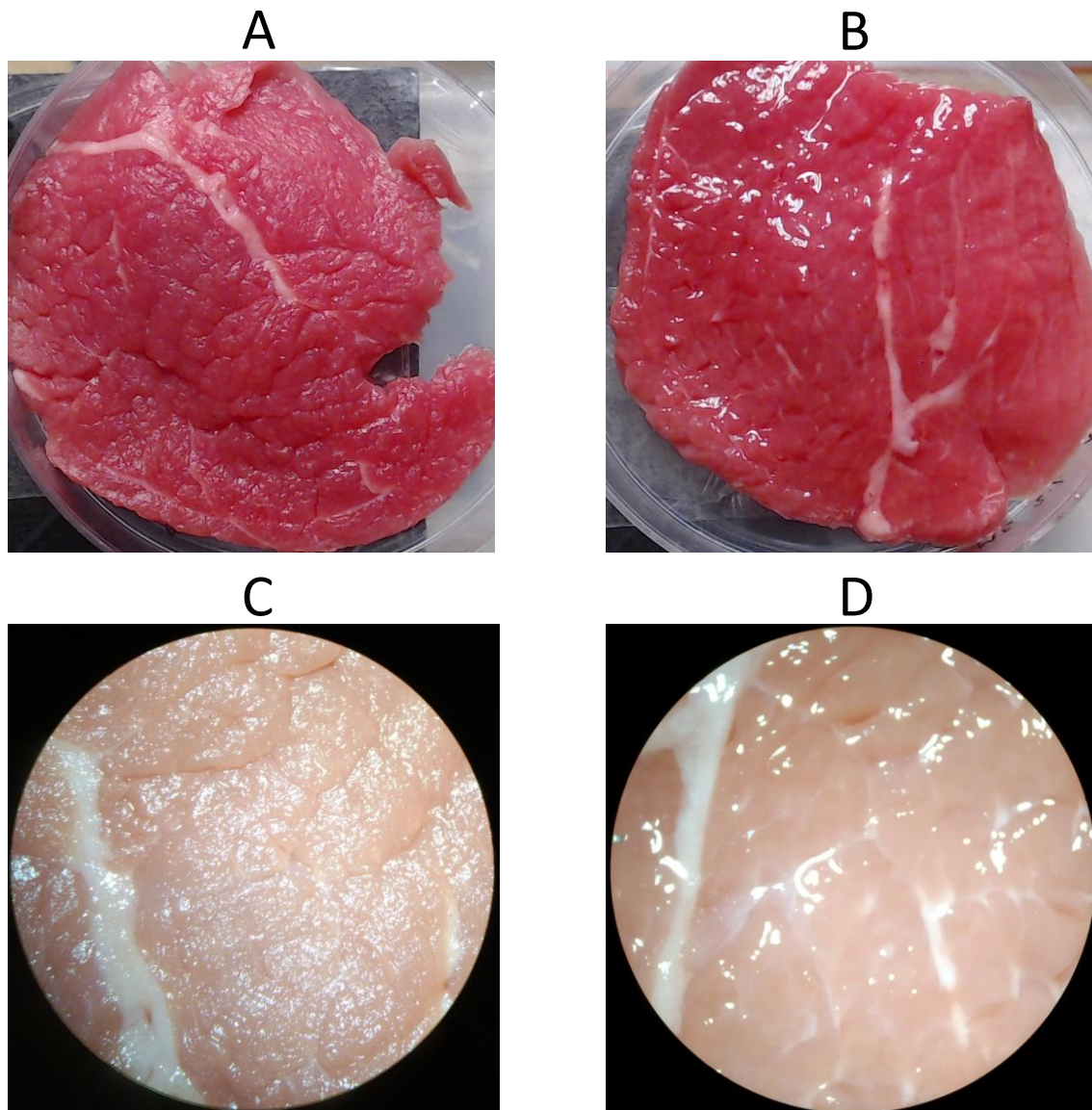
**FIGURA 7.** Representación de los valores de PC1 para el láser 1+2.

La escasa información aportada por los descriptores obtenidos a partir de las imágenes generadas por el láser 1 estaría ligada a los pequeños cambios que sufrió el patrón láser con el transcurso de la experiencia, los cuales fueron menores que los propios de la materia prima o de la presencia del enzima añadido. Es por ello por lo que la utilización de esta disposición del láser necesita de sucesivos estudios en los que se varíen variables de captura que puedan incrementar los cambios que pudiesen estar presentes.

Para el láser 2 y la suma de la información procedente de ambos (L1+L2), como se ha mencionado, los valores de PC1 fueron disminuyendo con el tiempo, siendo más acusado el descenso para las muestras control que para las tratadas con el enzima. Esta menor variación estaría reflejando una menor variación de los descriptores para estas últimas. En base a los resultados observados en el estudio de textura cabría esperar lo contrario dado que fueron las muestras tratadas con el enzima las que tuvieron un mayor cambio en su textura. Pero si observamos la figura 8 en la que se muestra a modo de ejemplo la evolución del descriptor W4 obtenido en el láser 2, las muestras control son las que sufren un mayor cambio. La explicación a esto se podría encontrar en el tratamiento de las muestras con el enzima. Como se muestra en la figura 9, tras la incorporación del enzima en la superficie de la carne se forma una capa de gel superficial como consecuencia de la interacción de la proteína con el agua de la carne, la cual según estudios realizados presentaría una viscosidad de 0.009 a 0.081 c.G.s. (Langmuir y Schaefer, 1939). Este gel minimizaría los cambios que se pudiesen estar dando y por tanto cabría esperar que estos fuesen mucho mayores al igual que ocurría con los cambios en textura.



**FIGURA 8.** Evolución del descriptor  $W4$  a lo largo del tiempo para la muestra control y enzima, captado por el láser 2, con imágenes del patrón de luz generado por difracción láser y el área que recoge el descriptor  $W4$  para 3 tiempos ( $t=0$ ,  $t=5$  y  $t=26$ ).

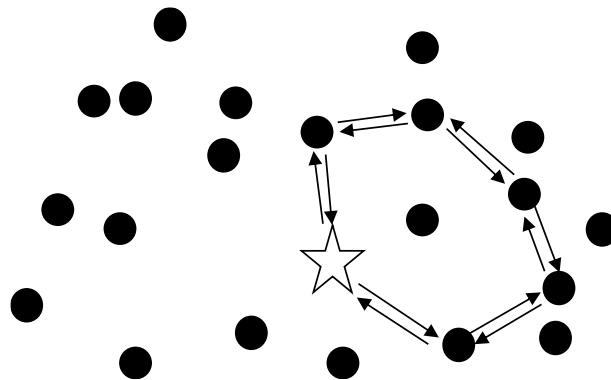


**FIGURA 9.** Imágenes a la hora de estudio de muestras control (A y C) y tratadas con el enzima (B y D) tomadas con cámara fotográfica (A y B) y con lupa a 10x20 aumentos (C y D).

Por otro lado, el descenso de descriptores como el W4 (figura 8) y los valores de PC1 (figuras 6 y 7), con el paso del tiempo y a medida que avanza la evolución textural y madurativa de la carne podría sorprender. Así, de haber seguido un proceso de difusión normal de la luz, la intensidad de luz que atraviesa la muestra cabría haber esperado que hubiese aumentado como consecuencia de una menor compactación de la carne a consecuencia de la ruptura de la estructura proteica por parte de los enzimas (estructura más abierta). Sin embargo, este comportamiento fue a la inversa. Una posible explicación estaría ligada al fenómeno físico denominado localización de Anderson. En base a este fenómeno la difusión de la luz en un sistema desordenado puede llegar a detenerse (se confina) cuando el desorden alcanza un valor crítico. El proceso de scattering llevado a cabo por el elevado desorden hace que el material reduzca la trasmisión de luz a través de este, reduciéndose exponencialmente el coeficiente de transmisión con el espesor de la muestra (Wiersma *et al.*, 1997), pudiendo llegar a ser opaco. Este efecto tiene origen en la interferencia constructiva entre los múltiples caminos de dispersión (figura 10). En el límite de una dispersión fuerte, la interferencia puede detener

completamente las ondas dentro del medio desordenado. Esto se debe a la naturaleza ondulatoria de la luz (Störzer *et al.*, 2006). Este comportamiento es el representado en la figura 10. En ella, la fuente de luz se simboliza mediante la estrella, y los puntos negros se corresponden con los elementos de dispersión (scatters). El camino aleatorio que toma la fuente de luz puede seguir cualquiera de las dos rutas representadas en la figura mediante flechas. Las dos ondas de propagación toman direcciones opuestas a lo largo del bucle, debido a que poseen coherencia espacial y temporal (están en fase), crean interferencias constructivas, y como consecuencia de esto, una menor probabilidad de distanciarse de la fuente de luz (Wiersma *et al.*, 1997).

La acción de los enzimas genera la ruptura de proteínas tanto del tejido conjuntivo como miofibrilares, así como la deslocalización del agua retenida por las proteínas miofibrilares, incrementando el nivel de desorden del medio y por ende la dispersión sufrida por las ondas a lo largo de su propagación, provocando un estado localizado, y de esta forma disminuyendo el diámetro de la altura máxima del patrón de luz a medida que aumenta este nivel de desorganización.



**FIGURA 10.** Representación de la localización de la luz en un medio desordenado.

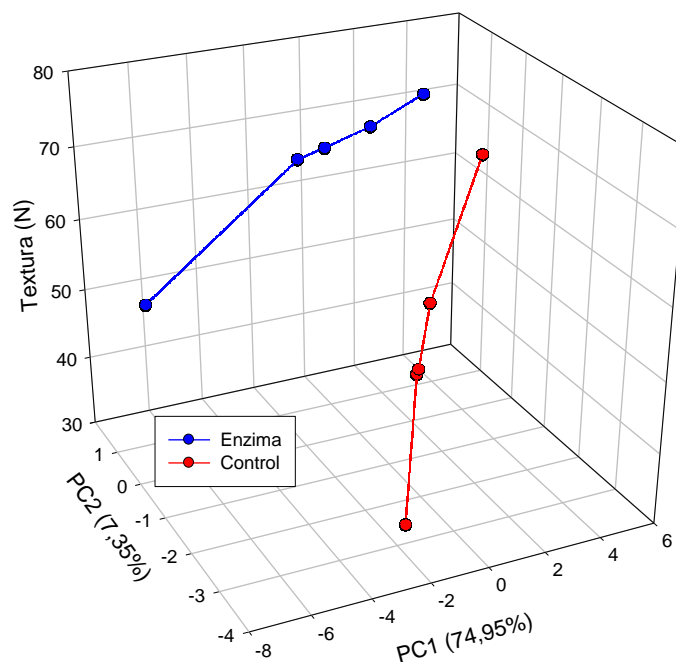
Aun teniendo en cuenta el efecto minimizador del gel superficial sobre las variaciones de los patrones láser para las muestras tratadas con el enzima y el efecto del fenómeno físico de localización de Anderson para ambos tipos de muestras, la tendencia de los descriptores presentó una similitud con la evolución de la textura. Si observamos la figura 8, el descenso de los valores del descriptor W4 se dio de forma paulatina, hasta el final del estudio, para las muestras control, mientras que para las muestras tratadas con el enzima este se dio fundamentalmente durante las primeras 3 horas. Este resultado estaría mostrando, al igual que lo hizo el análisis de textura, como el proceso de maduración por la acción de los enzimas endógenos propios de la carne se da de forma prolongada y en cambio la acción del enzima papaína se da mayoritariamente durante las primeras 3 horas.

Este resultado mostraría la existencia de la interacción de ambos factores (tiempo y enzima) sobre el descriptor 4, al igual que para el resto de los descriptores y por tanto de la PC1. Es por ello que mediante la técnica de análisis de patrones se podría describir la velocidad de cambio que sufre la carne durante su proceso de maduración, teniendo en cuenta el factor adición de enzima, pero es necesario evaluar si esta variación está ligada directamente con el cambio textural. Para tal fin se realizó un estudio de relación entre ambas técnicas (textura vs medición láser).



### 4.3 Relación entre los datos de textura e imagen

Dado que la información procedente de los descriptores y reducida a las dos componentes principales PC1 y PC2, para el láser 2 y la suma del láser 1+2, fue muy similar, se procedió solo al estudio de aquella procedente del láser 2, ya que esto implica reducir la información de los descriptores a la mitad, además de su mayor valor en la PC1. En la figura 11 se muestra dicha relación en la que el eje X representa los valores de la PC1, el Y los de la PC2 y el Z el de textura.



**FIGURA 11.** Representación tridimensional del láser 2. X = valores de PC1; Y = valores de PC2; Z = valores de textura (N).

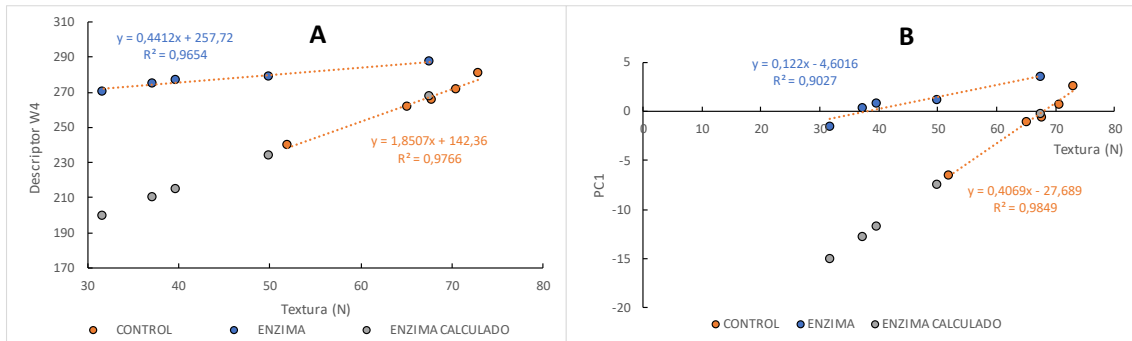
Como se puede observar, existe una correlación entre los datos obtenidos por el análisis de textura y los obtenidos mediante el análisis de patrones láser, mostrando una tendencia similar. Mientras la PC1 estuvo relacionada con la textura, de modo que sus valores a lo largo del tiempo de estudio fueron descendiendo de igual modo que lo hicieron los de textura, la PC2 discriminó las muestras en función del tratamiento, con valores más altos para las muestras tratadas con el enzima papaína y más bajos para las muestras control.

Dada la correlación directa entre la textura y los valores de la PC1, se procedió al estudio teórico de cuál podría ser la incidencia del gel superficial formado sobre la evolución del patrón láser a lo largo del tiempo de estudio. Esta cuantificación podría permitir obtener un modelo que permitiese la corrección del efecto gel y relacionar directamente la evolución de la PC1 con la textura.

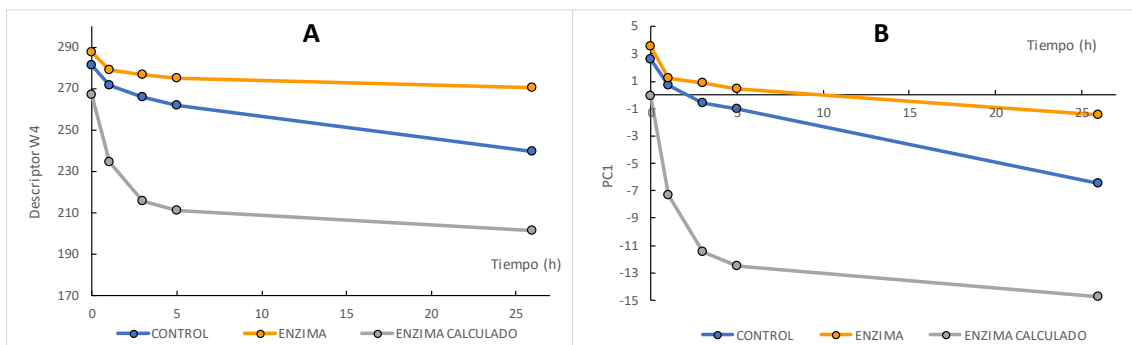
Para la realización del estudio teórico primero se ecuacionó la relación existente entre la textura y la PC1 (figura 12B), y a modo de ejemplo también con el descriptor W4 (figura 12A). Como se puede observar, tanto para las muestras control (linealización naranja) como para las tratadas con el enzima (linealización azul), los valores de  $R^2$  fueron altos tanto para el descriptor W4 como para la PC1. Este resultado pone de manifiesto la relación directa existente entre la variación de la textura y del patrón láser.

Considerando la relación directa entre la textura y los descriptores láser y asumiendo que todos los cambios de estos últimos para las muestras control son consecuencia de la variación de textura, se calcularon cuáles deberían ser los nuevos valores de W4 y PC1 para las muestras

tratadas con el enzima si estas no tuvieran el factor gel superficial. Es decir, se calcularon los nuevos valores de W4 y PC1 para las muestras tratadas con el enzima mediante la ecuación obtenida para las muestras control. Los nuevos valores se muestran en la figura 12 de color gris, relacionando el valor real de textura y el de W4 y PC1 predichos. Además, en la figura 13 se muestran los mismos valores a lo largo del tiempo de estudio.



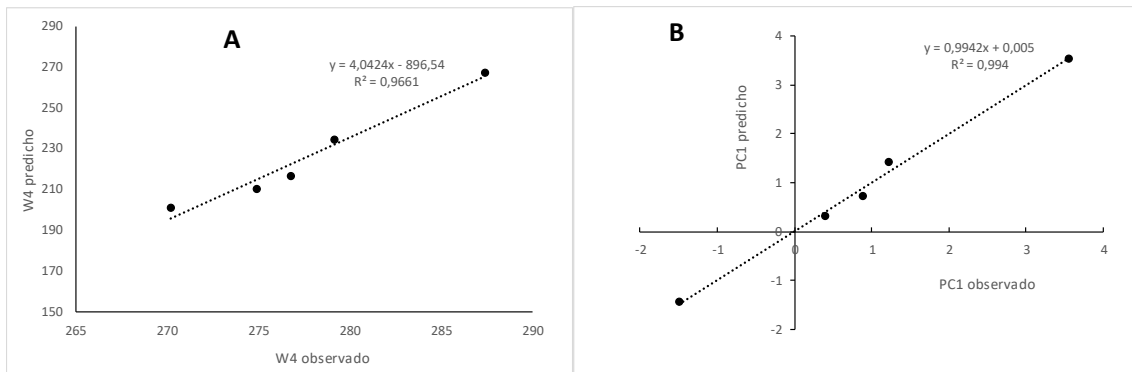
**FIGURA 12.** A: Modelizado de los valores del descriptor W4, de las muestras tratadas con enzima, a partir de los modelos obtenidos para las muestras control frente a los valores de textura. B: Valores de PC1 obtenidos por imagen frente a los calculados a partir del modelo.



**FIGURA 13.** Modelizado de los valores del descriptor W4 (A) y de la PC1 (B), de las muestras tratadas con enzima, a partir de los modelos obtenidos para las muestras control.

Los nuevos valores calculados del descriptor W4 y de la PC1 (figura 12 y 13) mostrarían ahora un comportamiento más similar al observado en textura. Así las muestras tratadas con el enzima serían las que más variación del patrón láser tendrían con el tiempo, siendo esta variación muy acusada durante las 3 primeras horas. En cambio, la variación para las muestras control sería menor y sostenida durante todo el tiempo de estudio.

Finalmente, y con la finalidad de poder predecir la textura de nuevas muestras tratadas con el enzima, y por tanto con el efecto gel superficial, se procedió a correlacionar los nuevos valores predichos con los observados durante la experiencia. Como se muestra en la figura 14, tanto para el descriptor W4, como para la PC1, existió una relación lineal con un valor de  $R^2$  elevado en ambos casos, generándose dos ecuaciones capaces de convertir nuevos valores obtenidos bajo el efecto gel en los mismos sin efecto, los cuales podrán ser introducidos en la ecuación que relaciona los valores de PC1 y textura para las muestras control (línea naranja, figura 12B) y obtenerse los valores de textura de estas nuevas muestras.



**FIGURA 14.** Relación entre el comportamiento de las muestras enzima predicho y observado para el descriptor 4 (A) y para la PC1 (B).

## 5. CONCLUSIONES

El análisis de patrones de dispersión láser generados al interactuar con la matriz del alimento permite caracterizar el estado de maduración de la carne, aportando información sobre su textura de una forma continua y no destructiva.

La disposición del láser con respecto a la muestra y a la cámara de captura de imágenes es un factor muy influyente. Su disposición superior con respecto a la muestra, formando un ángulo de  $45^\circ$  entre ésta y la cámara de captura, no genera diferencias en los patrones láser que puedan ser correlacionadas con el tiempo de maduración ni con la aplicación de un enzima exógeno. En cambio, su disposición inferior, atravesando a la muestra, y en la vertical con la cámara de captura, es decir, aportando información a través del fenómeno de refracción, se ha mostrado eficaz. Mediante esta disposición los patrones láser que se forman pueden ser correlacionados con el tiempo de maduración y con el efecto de un enzima exógeno.

La aplicación en superficie de un enzima exógeno como la papaína minimiza las variaciones con el tiempo de los patrones láser como consecuencia de la formación de un gel superficial que perdura durante todo el proceso de maduración-acción enzimática de la carne.

Los descriptores obtenidos a partir de la información procedente del análisis de las imágenes de los patrones láser, así como su reducción a una sola componente principal, se correlacionan muy bien con los valores de textura de las muestras a lo largo del estudio, tanto para las muestras sin enzima añadido como para las que sí se añadió, describiendo estas. Esta buena correlación ha permitido poder obtener modelos teóricos que pueden minimizar el efecto gel superficial de las muestras con enzima exógeno añadido, caracterizando su textura al igual que con las muestras de carne control.

Nuevos estudios son necesarios con el fin de incrementar la calidad de los resultados, hacerlos más robustos y que permitan poder ser aplicados de una forma menos teórica. Entre otros, analizar la información procedente de las imágenes en espacios de color como el RGB y extraer descriptores para cada uno de los canales, modificaciones en el dispositivo, combinar diferentes técnicas de análisis de imagen, etc.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- ABDEL-NAEEM, H. H., AND MOHAMED, H. M. (2016). Improving the physico-chemical and sensory characteristics of camel meat burger patties using ginger extract and papain. *Meat science*, 118, 52-60.
- ADEBAYO, S. E., HASHIM, N., ABDAN, K., AND HANAFI, M. (2016). Application and potential of backscattering imaging techniques in agricultural and food processing—A review. *Journal of Food Engineering*, 169, 155-164.
- ADEDEJI, A. A., LIU, L., AND NGADI, M. O. (2011). Microstructural evaluation of deep-fat fried chicken nugget batter coating using confocal laser scanning microscopy. *Journal of food engineering*, 102(1), 49-57.
- AHMED, J., RAMASWAMY, H. S., AND RAGHAVAN, V. G. (2007). Dielectric properties of Indian Basmati rice flour slurry. *Journal of food engineering*, 80(4), 1125-1133.
- AOAC (2019). Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL, 21st Edition
- ASHIE, I. N. A.; SORENSEN, T. L. AND NIELSEN, P. M. (2002). Effects of papain and a microbial enzyme on meat proteins and beef tenderness. *Journal of Food Science*, 67 (6), 2138-2142.
- BAREKAT, S. AND SOLTANIZADEH, N. (2017). Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innovative food science & emerging technologies*, 39, 223-229.
- BASARAN, P., BASARAN-AGGUL, N., AND RASCO, B. A. (2010). Dielectric properties of chicken and fish muscle treated with microbial transglutaminase. *Food chemistry*, 120(2), 361-370.
- CALKINS, C. R., AND SULLIVAN, G. (2007). Adding enzymes to improve beef tenderness. Beef Facts Product Enhancement, *National Cattleman's Beef Association. Centennial Colorado: Cattleman's Beef Board*.
- CAVITT, L. C., YOUM, G. W., MEULLENET, J. F., OWENS, C. M., AND XIONG, R. (2004). Prediction of poultry meat tenderness using razor blade shear, Allo-Kramer shear, and sarcomere length. *Journal of Food Science*, 69(1), SNQ11-SNQ15.
- CHEN, P., MCCARTHY, M. J., KAUTEN, R., SARIG, Y., & HAN, S. (1993). Maturity evaluation of avocados by NMR methods. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 55(3), 177-187.
- CHEN, Q., ZHANG, C., ZHAO, J., & OUYANG, Q. (2013). Recent advances in emerging imaging techniques for non-destructive detection of food quality and safety. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 52, 261-274.
- CHEN, Y. Y., REN, K., SHAO, X. F., DONG, Q. L., PAN, L. Q., AND TU, K. (2006). Modeling apple quality changes based on laser scattering image analysis under simulated shelf life conditions. In *IV International Conference on Managing Quality in Chains-The Integrated View on Fruits and Vegetables Quality* 712 (pp. 371-380).
- CHÉRET, R., DELBARRE-LADRAT, C., DE LAMBALLERIE-ANTON, M., AND VERREZ-BAGNIS, V. (2007). Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles. *Food Chemistry*, 101(4), 1474-1479.
- CHOI, K. H., LEE, K. J., AND KIM, G. (2006). Nondestructive quality evaluation technology for fruits and vegetables using near-infrared spectroscopy. In *International Seminar on Enhancing Export Competitiveness of Asian Fruits*.
- CHRISTENSEN, M., ERTBJERG, P., FAILLA, S., SAÑUDO, C., RICHARDSON, R. I., NUTE, G. R., ... AND HOCQUETTE, J. F. (2011). Relationship between collagen characteristics, lipid content and raw and cooked texture of meat from young bulls of fifteen European breeds. *Meat Science*, 87(1), 61-65.
- CLARK, C. J., AND MACFALL, J. S. (2003). Quantitative magnetic resonance imaging of 'Fuyu' persimmon fruit during development and ripening. *Magnetic Resonance Imaging*, 21(6), 679-685.
- CLUFF, K., NAGANATHAN, G. K., SUBBIAH, J., LU, R., CALKINS, C. R., AND SAMAL, A. (2008). Optical scattering in beef steak to predict tenderness using hyperspectral imaging in the VIS-NIR region. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 2(3), 189-196.
- COSTA, N., STELLETTA, C., CANNIZZO, C., GIANESELLA, M., LO FIEGO, P., AND MORGANTE, M. (2007). The use of thermography on the slaughter-line for the assessment of pork and raw ham quality. *Italian journal of animal science*, 6(sup1), 704-706.
- DARLING, C. L., HUYNH, G., AND FRIED, D. (2006). Light scattering properties of natural and artificially demineralized dental enamel at 1310 nm. *Journal of biomedical optics*, 11(3), 034023.
- DE HUIDOBRO, F. R., MIGUEL, E., BLÁZQUEZ, B., AND ONEGA, E. (2005). A comparison between two methods (Warner–Bratzler and texture profile analysis) for testing either raw meat or cooked meat. *Meat science*, 69(3), 527-536.
- DRANSFIELD, E., AND SOSNICKI, A. A. (1999). Relationship between muscle growth and poultry meat quality. *Poultry science*, 78(5), 743-746.

- DUTTA, R., KASHWAN, K. R., BHUYAN, M., HINES, E. L., AND GARDNER, J. W. (2003). Electronic nose based tea quality standardization. *Neural Networks: 16*(5-6), 847-853.
- FU, Y (2016). Tenderness as well as bioactivity—enzymatic exploration of collagen. PhD tesis. Aarhus University.
- FULLADOSA, E., RUBIO-CELORIO, M., SKYTTE, J. L., MUÑOZ, I., AND PICOUET, P. (2017). Laser-light backscattering response to water content and proteolysis in dry-cured ham. *Food control: 77*, 235-242.
- GAN, T. H., PALLAV, P., AND HUTCHINS, D. A. (2006). Non-contact ultrasonic quality measurements of food products. *Journal of Food Engineering, 77*(2), 239-247.
- GARCÍA, E. M., AND FERNÁNDEZ, I. (2012). Determinación de la humedad de un alimento por un método gravimétrico indirecto por desecación. Artículo docente. Universidad Politécnica de Valencia. España, 20.
- GONZÁLEZ, R., AND BEVILACQUA, J. (2009). Disfagia en el paciente neurológico. *Rev Hosp Clín Univ Chile, 20*, 252-62.
- GREENSILL, C. V., AND NEWMAN, D. S. (1999). An Investigation into the Determination of the Maturity of Pawpaws (Carica Papaya) from NIR Transmission Spectra. *Journal of Near Infrared Spectroscopy, 7*(2), 109-116.
- HASHIM, N., PFLANZ, M., REGEN, C., JANIUS, R. B., RAHMAN, R. A., OSMAN, A., ... AND ZUDE, M. (2013). An approach for monitoring the chilling injury appearance in bananas by means of backscattering imaging. *Journal of Food Engineering, 116*(1), 28-36.
- HLAVÁČOVÁ, Z (2003). Low frequency electric properties utilization in agriculture and food treatment. *Res. Agr. Eng, 49*(4), 125-136.
- IONESCU, A.; APRODU, I.; PASCARU, G. (2008). Effect of papain and bromelin on muscle and collagen proteins in beef meat. *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI--Food Technology, 1*(31).
- ISTRATI, D (2008). The influence of enzymatic tenderization with papain on functional properties of adult beef. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, 14*, 140-146.
- JENKINS, C. L., BRETSCHER, L. E., GUZEI, I. A., AND RAINES, R. T. (2003). Effect of 3-hydroxyproline residues on collagen stability. *Journal of the American Chemical Society, 125*(21), 6422-6427.
- KAMDEM, A. K., & HARDY, J. (1995). Grinding as a method of meat texture evaluation. *Meat science, 39*(2), 225-236.
- LEE, Y. S., OWENS, C. M., AND MEULLENET, J. F. (2008). The meullenet-owens razor shear (mors) for predicting poultry meat tenderness: its applications and optimization. *Journal of texture studies, 39*(6), 655-672.
- LI, H., SUN, X., PAN, W., KUTSANEDZIE, F., ZHAO, J., AND CHEN, Q. (2016). Feasibility study on nondestructively sensing meat's freshness using light scattering imaging technique. *Meat science, 119*, 102-109.
- LIGHT, N., CHAMPION, A. E., VOYLE, C., AND BAILEY, A. J. (1985). The role of epimysial, perimysial and endomysial collagen in determining texture in six bovine muscles. *Meat science, 13*(3), 137-149.
- LIM, S. A. H., AND ANTONY, J. (2016). Statistical process control readiness in the food industry: Development of a self-assessment tool. *Trends in food science & technology, 58*, 133-139.
- LÓPEZ FERNÁNDEZ, D. (2015). Análisis de la actividad de catepsinas b, b+ lyh en carne de cerdo en diferentes genéticas. Tesis de máster. Universidad Politécnica de Valencia.
- MACONI, G., PENTTILÄ, A., KASSAMAKOV, I., GRITSEVICH, M., HELANDER, P., PURANEN, T., ... AND MUINONEN, K. (2018). Non-destructive controlled single-particle light scattering measurement. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer, 204*, 159-164.
- MEHL, P. M., CHAO, K., KIM, M., AND CHEN, Y. R. (2002). Detection of defects on selected apple cultivars using hyperspectral and multispectral image analysis. *Applied engineering in agricultura, 18*(2), 219.
- MEN, H., WANG, W., GE, Z., & SUN, J. (2008). Application of neural networks to identify wine based on electronic tongue. In *2008 IEEE Pacific-Asia Workshop on Computational Intelligence and Industrial Application, 1*, 896-900.
- MERY, D., LILLO, I., LOEBEL, H., RIFFO, V., SOTO, A., CIPRIANO, A., AND AGUILERA, J. M. (2011). Automated fish bone detection using X-ray imaging. *Journal of Food Engineering, 105*(3), 485-492.
- MIZRACH, A. (2007). Nondestructive ultrasonic monitoring of tomato quality during shelf-life storage. *Postharvest Biology and Technology, 46*(3), 271-274.
- MOLLAZADE, K., OMID, M., TAB, F. A., KALAJ, Y. R., MOHTASEBI, S. S., AND ZUDE, M. (2013). Analysis of texture-based features for predicting mechanical properties of horticultural products by laser light backscattering imaging. *Computers and electronics in agriculture, 98*, 34-45.
- NAVEENA, B. M.; MENDIRATTA, S. K. AND ANJANEYULU, A. S. R. (2004). Tenderization of buffalo meat using plant proteases from Cucumis trigonus Roxb (Kachri) and Zingiber officinale roscoe (Ginger rhizome). *Meat Science, 68*(3), 363-369.
- NIELSEN, S. S. (Ed.). (2010). Food analysis (pp. 139-141). New York: Springer.

- QING, Z., JI, B., AND ZUDE, M. (2008). Non-destructive analyses of apple quality parameters by means of laser-induced light backscattering imaging. *Postharvest Biology and Technology*, 48(2), 215-222.
- RUIZ-RAMÍREZ, J., ARNAU, J., SERRA, X., AND GOU, P. (2005). Relationship between water content, NaCl content, pH and texture parameters in dry-cured muscles. *Meat Science*, 70(4), 579-587.
- SALINAS, Y., ROS-LIS, J. V., VIVANCOS, J. L., MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R., MARCOS, M. D., AUCEJO, S., ... AND LORENTE, I. (2012). Monitoring of chicken meat freshness by means of a colorimetric sensor array. *Analyst*, 137(16), 3635-3643.
- SERRA, X., RUIZ-RAMÍREZ, J., ARNAU, J., AND GOU, P. (2005). Texture parameters of dry-cured ham m. biceps femoris samples dried at different levels as a function of water activity and water content. *Meat Science*, 69(2), 249-254.
- SHIRANITA, K., MIYAJIMA, T., AND TAKIYAMA, R. (1998). Determination of meat quality by texture analysis. *Pattern Recognition Letters*, 19(14), 1319-1324.
- SOCIEDAD ESPAÑOLA DE GERIATRÍA Y GERONTOLOGÍA (2006). *Tratado de geriatría para residentes*. [Consulta: 28 de mayo de 2019]. En: <https://www.segg.es/tratadogeriatría/main.html>
- STÖRZER, M., GROSS, P., AEGERTER, C. M., AND MARET, G. (2006). Observation of the critical regime near Anderson localization of light. *Physical review letters*, 96(6), 063904.
- TU, K., JANCZÓK, P., NICOLAÏ, B., AND DE BAERDEMAEKER, J. (2000). Use of laser-scattering imaging to study tomato-fruit quality in relation to acoustic and compression measurements. *International journal of food science & technology*, 35(5), 503-510.
- TYCKO, D. H., METZ, M. H., EPSTEIN, E. A., AND GRINBAUM, A. (1985). Flow-cytometric light scattering measurement of red blood cell volume and hemoglobin concentration. *Applied optics*, 24(9), 1355-1365.
- VERDÚ, S., BARAT, J. M., AND GRAU, R. (2019). Laser backscattering imaging as a non-destructive quality control technique for solid food matrices: Modelling the fibre enrichment effects on the physico-chemical and sensory properties of biscuits. *Food Control*, 100, 278-286.
- VERDÚ, S., BARAT, J. M., AND GRAU, R. (2019). Non destructive monitoring of the yoghurt fermentation phase by an image analysis of laser-diffraction patterns: Characterization of cow's, goat's and sheep's milk. *Food chemistry*, 274, 46-54.
- WIERSMA, D. S., BARTOLINI, P., LAGENDIJK, A., AND RIGHINI, R. (1997). Localization of light in a disordered medium. *Nature*, 390(6661), 671.