



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



INSTITUTO DE INGENIERÍA DE  
ALIMENTOS PARA EL DESARROLLO

# **UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA**

## **ANÁLISIS DE PATRONES LÁSER PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LA TEXTURA DE CARNE DE CERDO. EFECTO DEL PRETRATAMIENTO CON ENZIMA Y POSTERIOR COCCIÓN**

TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO EN GESTIÓN DE LA  
SEGURIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA

ALUMNO/A: PEDRO GABRIEL SÁNCHEZ TORRES

TUTOR ACADEMICO: RAÚL GRAU MELO

COTUTOR ACADEMICO: PAU TALENS OLIAG

DIRECTOR EXPERIMENTAL: SAMUEL VERDÚ AMAT

*Curso Académico: 2018-2019*

**VALENCIA, 12 DE SEPTIEMBRE DE 2019**

# **ANÁLISIS DE PATRONES LÁSER PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LA TEXTURA DE CARNE DE CERDO. EFECTO DEL PRETRATAMIENTO CON ENZIMA Y POSTERIOR COCCIÓN**

Sánchez, P.; Verdú, S.<sup>1</sup>; Talens, P.<sup>1</sup>; Grau, R.<sup>1</sup>.

## **RESUMEN**

En el presente trabajo se ha planteado aplicar la técnica de análisis de patrones láser para la caracterización no destructiva de la textura de carne de cerdo fresca y cocinada con y sin adición de papaína. Esta técnica se basa en hacer incidir la luz coherente de un láser sobre la muestra, de forma que este láser interacciona con la matriz del alimento, generando patrones de luz que se analizarán posteriormente mediante el uso de descriptores y variables obtenidas de estos patrones y de los píxeles que componen las imágenes.

Para llevar a cabo la experiencia se utilizaron filetes de cerdo de corte comercial dado que estos presentan un espesor homogéneo. Con la finalidad de incrementar los cambios que sufre la carne en refrigeración, a un lote se le añadió superficialmente un enzima exógeno, papaína. Durante las 24 horas que duró la experiencia, a cada tiempo de muestreo se fueron tomando muestras, unas para ser analizadas en fresco y otras para ser cocinadas a 70°C durante 3 minutos. Los análisis realizados fueron textura, variación de masa 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 en la vertical que describe el láser y la cámara. Las imágenes tomadas registran los patrones láser y son procesadas extrayendo descriptores que las caracterizan los cuales son analizados mediante análisis estadísticos multivariados y correlacionados con los resultados de textura y variación de masa. Los resultados han mostrado como el análisis de patrones de dispersión láser permite caracterizar el estado de la carne, aportando información sobre los cambios que se dan en su textura y/o contenido en agua de una forma continua y no destructiva. Así, los descriptores obtenidos a partir de la información procedente del análisis de las imágenes de los patrones láser y de su reducción a una sola componente principal se correlacionan con los valores de textura y pérdida de agua de las muestras a lo largo del estudio. Esta correlación se mejora cuando se utilizan sólo los descriptores más influyentes los cuales fueron principalmente los de distancia ( $W$ ) generados en el canal verde. Esto ha permitido, de forma teórica, obtener modelos que pueden predecir cual será la textura y la pérdida de agua de una muestra tras su cocción, lo cual es interesante dado que permitiría definir el tiempo de cocción.

**PALABRAS CLAVE:** láser, carne, papaína, textura, análisis de imagen

---

<sup>1</sup> Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politècnica de València, España.

## RESUM

En el present treball s'ha plantejat aplicar la tècnica d'anàlisi de patrons làser per a la caracterització no destructiva de la textura de carn de porc fresca i cuinada amb i sense addició de papaïna. Aquesta tècnica es basa en fer incidir la llum coherent d'un làser sobre la mostra, de manera que aquest làser interacciona amb la matriu de l'aliment, generant patrons de llum que s'analitzaran posteriorment mitjançant l'ús de descriptors i variables obtingudes d'aquests patrons i dels píxels que componen les imatges.

Per dur a terme l'experiència es van utilitzar filets de porc de tall comercial ja que aquests presenten un gruix homogeni. Amb la finalitat d'incrementar els canvis que pateix la carn en refrigeració, a un lot se li va afegir superficialment un enzim exogen, papaïna. Durant les 24 hores que va durar l'experiència, a cada temps de mostreig es van anar prenent mostres unes per ser analitzades en fresc i altres per ser cuinades a 70°C durant 3 minuts. Els anàlisis realitzats van ser textura, variació de massa i la variació del patró làser generat. L'anàlisi de textura es va realitzar mitjançant el mètode de tall Warner-Bratzler. Per a l'anàlisi d'imatge, les mostres van ser disposades en la vertical que descriu el làser i la càmera. Les imatges preses registren els patrons làser i són processades extraient descriptors que les caracteritzen els quals són analitzats mitjançant anàlisis estadístiques multivariants i correlacionats amb els resultats de textura i variació de massa.

Els resultats han mostrat com l'anàlisi de patrons de dispersió làser permet caracteritzar l'estat de la carn, aportant informació sobre els canvis que es donen en la seua textura i / o contingut en aigua d'una manera contínua i no destructiva. Així, els descriptors obtinguts a partir de la informació procedent de l'anàlisi de les imatges dels patrons làser i de la seua reducció a una sola component principal es correlacionen amb els valors de textura i pèrdua d'aigua de les mostres al llarg de l'estudi. Aquesta correlació es millora quan s'utilitzen sols els descriptors més influents els quals van ser principalment els de distància (W) generats al canal verd. Això ha permès, de forma teòrica, obtenir models que poden predir quina serà la textura i la pèrdua d'aigua d'una mostra després de la seua cocció, la qual cosa és interessant ja que permetria definir el temps de cocció.

**PARAULES CLAU:** làser, carn, papaïna, textura, anàlisi d'imatge

## **ABSTRACT**

The main objective of this work is to apply laser backscattering technique for non-destructive characterization of fresh meat pork texture and cooked meat pork texture with or without adding papain. This technique is based on lighting with a laser in a determined sample, so this laser light interacts with the sample matrix, causing some light patterns that will be analysed later using different variables and some descriptors obtained from that patterns and also obtained with the pixels that compose the pictures taken.

The experiment was done with commercial fresh pork meat slices because they present homogenous thickness. Exogenous enzyme (papain) was added superficially to one batch to increase changes suffered while cooking meat. The experiment studied take 24 hours, during each time of sampling the samples were taken to be analysed in fresh and other samples being cooked at 70° for 3 minutes. Texture, mass variation and generated laser pattern variation were the analysis realized. Texture analysis was accomplished by Warner-Blatzer cutting method. To practice the image analysis, samples were disposed in the vertical described by the camera and the laser. Pictures taken record the laser patterns and are processed by extracting descriptors that characterize them, which are analysed by multivariate statistical analysis and correlated with the results of texture and mass variation.

Results has shown that laser backscattering analysis let us to characterize meat condition, giving us information about changes produced in meat texture and/or water content as a non-destructive and continual method. Thereby, the descriptors obtained from the information given by the analysis of the images of the laser patterns obtained and their reduction to a single main component, are correlated with texture results and water loss of the samples throughout this study. This correlation improves when only the most influential descriptors are used, which were mainly distance descriptors (W), generated in the green channel. This has allowed, theoretically, to obtain models that can predict which texture and water loss a sample of meat will have after cooking it, which is interesting due to it would allow us to define the cooking time of a slice of meat.

**KEYWORDS:** laser, meat, papain, texture, image analysis

## 1. INTRODUCCIÓN

La textura es una de las cualidades organolépticas más valorada por los consumidores, especialmente en ciertos alimentos como son las frutas y verduras o la carne (Xiong et al, 2006). Concretamente, en el sector cárnico, es especialmente valorada la textura, sobre todo el grado de ternura, por el consumidor (Rahim y Ghazali, 2014) a la hora de elegir un tipo de producto u otro. Para determinar el grado de ternura de la carne se han venido empleando técnicas destructivas para saber cómo es la textura de la carne y cómo se comportará esta tras su cocción (Chang et al, 2011). Dicha textura puede modificarse para adaptar las cualidades organolépticas a ciertos grupos poblacionales (Chen et al, 2015), mediante métodos físicos o químicos. Por otra parte, la adición de ciertos coadyuvantes tecnológicos como son las enzimas se ha utilizado tradicionalmente para conseguir una textura más blanda en piezas cárnicas, concretamente mediante la adición de enzimas proteolíticas como la papaína o la bromelaína (Marques et al, 2010) o en combinación con otros tratamientos tecnológicos como los ultrasonidos (Barekat y Soltanizadeh, 2017).

Gran parte de los métodos analíticos utilizados para evaluar la textura de los alimentos son destructivos, con las consecuentes pérdidas económicas que ello conlleva. Sin embargo, en los últimos años, la industria agroalimentaria ha venido apostando por técnicas analíticas no destructivas, con el ahorro de costes que ello supone frente a las técnicas destructivas y subjetivas que se han utilizado de forma tradicional (Adebayo et al, 2016). Mediante las técnicas de análisis no destructivas se puede monitorizar por ejemplo la textura de los alimentos y su evolución en el tiempo (Pérez-Santaescolástica et al, 2019). Estas técnicas se han desarrollado especialmente en el sector hortofrutícola (Mollazade et al, 2013), para valorar la madurez de frutas y verduras, detección temprana de contaminación fúngica, clasificación por categorías etc. En menor medida también se ha ido aplicando al sector cárnico (Fulladosa et al, 2017), para investigar diversas propiedades en carne de pollo, cerdo y vacuno principalmente. Entre las técnicas de análisis no destructivas utilizadas para monitorizar cambios en los alimentos se encuentran principalmente los ultrasonidos, la resonancia magnética nuclear, los rayos X, la retrodispersión láser etc. (Damez y Clerjon, 2008). Una de las técnicas no destructivas emergentes es la toma de imágenes mediante retrodispersión láser (Verdú et al, 2019a). La retrodispersión láser permite que el producto no tenga que ser manipulado necesariamente (Damez y Clerjon, 2008), con los riesgos en materia de seguridad alimentaria que ello conlleva, además de ser un análisis rápido y con bajo coste por lo que podría aplicarse directamente en la industria alimentaria.

Dicha técnica se ha aplicado a diversas matrices alimentarias, como cremas, galletas y yogur (Verdú et al, 2018, 2019a y 2019b) y consiste en hacer incidir la luz coherente de un láser sobre una muestra, de forma que el láser interacciona con la matriz del alimento, generando patrones de luz que

se analizan posteriormente mediante el uso de descriptores y variables obtenidas de estos patrones y de los píxeles que componen las imágenes capturadas. Así, mediante los datos obtenidos de imagen junto a los datos obtenidos de textura se ha podido predecir cuál será la textura de la matriz únicamente teniendo la información aportada por la imagen debido a la matriz de datos obtenida (Mollazade et al, 2013).

En base a lo expuesto, en el presente estudio se plantea aplicar la técnica de análisis de patrones láser para la caracterización no destructiva de la textura de carne de cerdo fresca y cocinada con y sin adición de papaína.

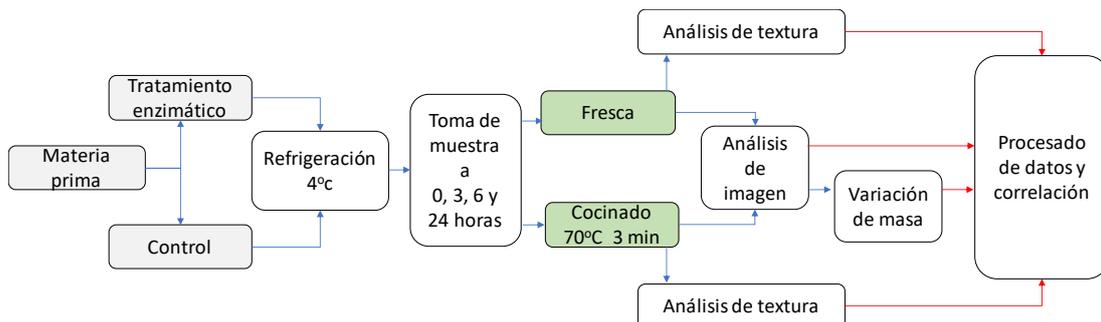
## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### Procedimiento experimental

El estudio se estableció en base a tres factores: tratamiento enzimático, tiempo de acción del enzima y cocinado (Figura 1). De esta forma se establecieron dos grupos de muestras: las tratadas enzimáticamente y las control (sin enzima añadida). Ambos grupos fueron almacenados a 4°C y analizados a t=0, 3, 6 y 24h.

A cada tiempo de muestreo se extrajeron 6 muestras. Todas ellas fueron analizadas en fresco con la técnica de imagen, mientras que el análisis de textura se realizó en fresco al 50% y tras un proceso de cocción al 50% restante. La experiencia se repitió un mínimo de tres veces.

Una vez finalizado el estudio se procedió al análisis de los datos obtenidos, tanto de textura, pérdida de peso, como de imagen, evaluándose el efecto tiempo de acción del enzima y el efecto cocinado. Tras el análisis de los datos de ambos bloques por separado, se procedió a estudiarlos en conjunto con la finalidad de determinar la dependencia entre ambos grupos de datos.



**Figura 1.** Esquema del procedimiento experimental realizado.

### Materias primas y reactivos

Las muestras analizadas fueron lotes de filetes de lomo de cerdo fresco refrigerado provenientes del músculo longísimo del dorso (*Frescos Delisano*). Estos se adquirieron en supermercados locales, ya que estos productos

suministrados de forma industrial presentan espesores homogéneos. Con la finalidad de abordar la variabilidad entre individuos, dichos lotes fueron re combinados en bandejas congelándose a -20°C. Antes de cada experiencia, los filetes fueron descongelados en refrigeración durante 24 horas.

El enzima utilizado en el estudio fue la papaína (Biocon, Les Franqueses del Vallés, España), un enzima proteolítico (Ionescu et al., 2008) con una actividad de 6000 USP.

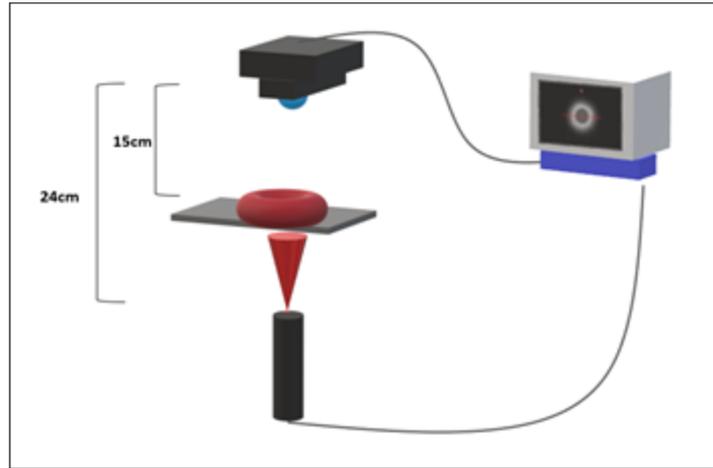
### **Preparación de las muestras**

Los filetes con un grosor de aproximadamente de 7 mm fueron divididos en dos mitades (5x5 cm) de entre 15 y 20g de peso, y colocadas en el interior de placas Petri. Las muestras control se prepararon sin la adición de enzima, mientras que en el caso de las muestras tratadas se les añadió sobre la superficie y de forma homogénea un 1% p/p de la misma. Las preparaciones se mantuvieron en refrigeración hasta el momento de las medidas de pérdida de peso, textura e imagen, las cuales se realizaron a tiempo 0, 3, 6 y 24 horas.

Para analizar el efecto del cocinado, las muestras fueron cocidas a cada tiempo sumergiéndolas en agua a 70°C durante 3 minutos en el interior de una bolsa impermeable. Tras el cocinado, se les realizó el análisis de imagen y textura, además de un cálculo de variación de masa mediante las diferencias de los pesos antes y después de cocción.

### **Análisis de imagen**

El sistema de captura de las imágenes se instaló dentro de una cabina en condiciones de oscuridad para evitar interferencias. El sistema (Figura 2) se basó en la captura, mediante una cámara digital (HD Cam Logitech C615, CCD, 8 megapíxeles, Logitech International S.A., Switzerland) de los patrones de difracción generados en la superficie de la carne al transmitir la luz láser proyectada sobre la cara inferior de la misma (Verdú et al, 2018b). La cámara se colocó a 15 cm sobre la superficie de la muestra. El puntero láser (650nm, 50mW, 3mm  $\varnothing$ ) se colocó de forma perpendicular 24 cm bajo la muestra. El formato de las imágenes capturadas fue RGB (Rojo, Verde, Azul) y almacenadas como jpg (3264x2448 píxeles).

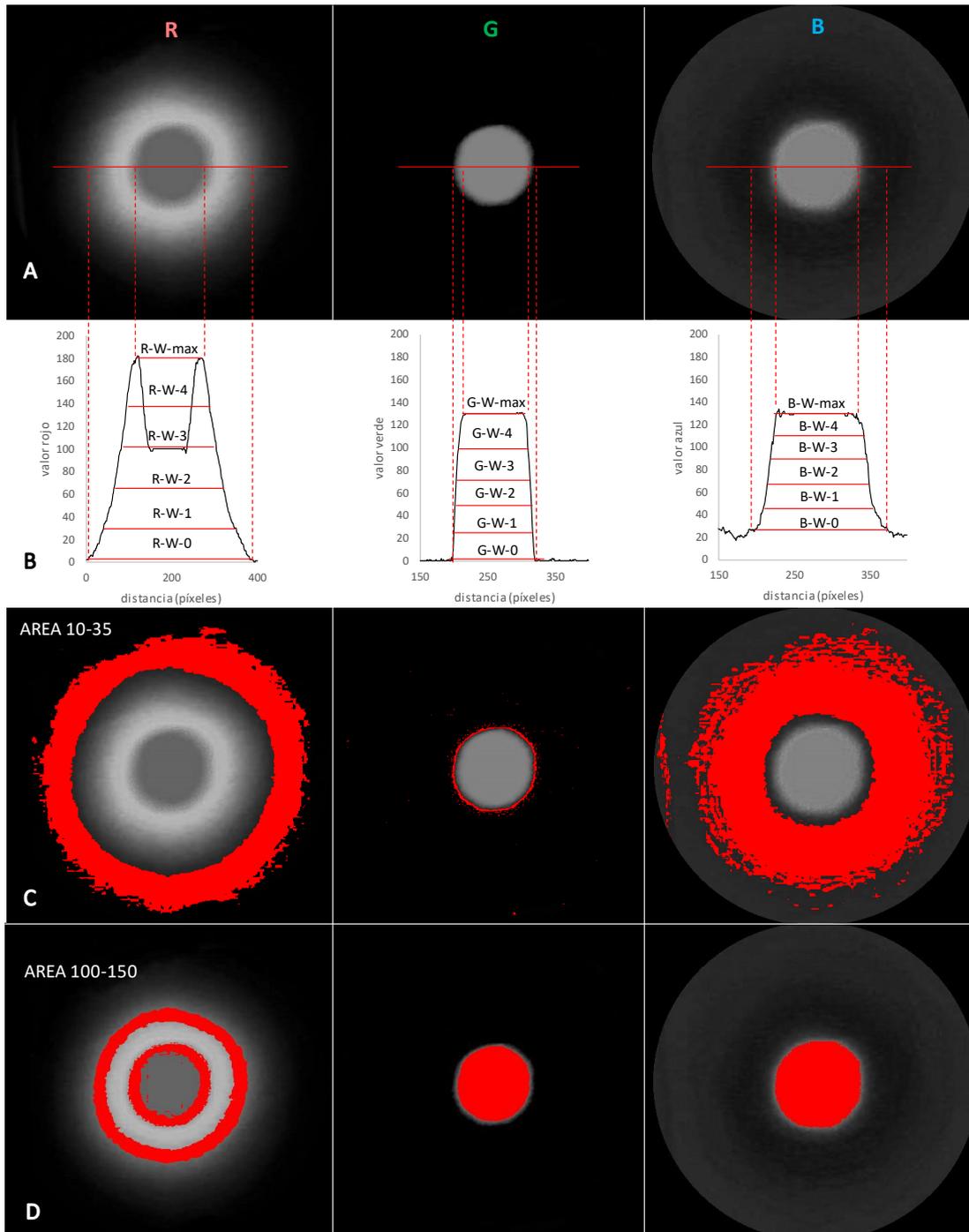


**Figura 2.** Representación gráfica del procedimiento de toma de imágenes de las muestras del estudio.

### **Procesamiento de las imágenes y obtención de datos**

Las imágenes obtenidas durante el estudio fueron procesadas con el fin de obtener la máxima cantidad de información en base a la cual modelizar el proceso de modificación de textura. Para ello, las imágenes fueron divididas en los tres canales de color que formaban su formato original: rojo (R), verde (G) y azul (B). Dicha división se llevó a cabo para analizar por separado la información recogida por los diferentes sensores y, si fuera el caso, eliminar ruido y/o aislar la información de interés del resto. Así pues, de cada captura se obtuvieron tres imágenes individuales correspondientes a los tres canales mencionados. Tras la división, se realizó la extracción de datos de cada imagen en base a parámetros preestablecidos o descriptores. Dichos descriptores son características de la escena capturada que recogen variabilidad de alguna magnitud presente en la misma ya sea en base a colores formas, longitudes, etc.

Principalmente se utilizaron dos tipos de descriptores: descriptores de distancias y descriptores de áreas. Los descriptores de distancia fueron 6 ( $W-0$ ,  $W-1$ ,  $W-2$ ,  $W-3$ ,  $W-4$ ,  $W-max$  y  $W-area$ ). Cada uno de las cuáles aportó información sobre diferentes componentes de las imágenes tomadas para cada uno de los canales RGB. Dichos descriptores pueden observarse en la Figura 3-B para cada uno de los tres canales descritos.



**Figura 3.** Descriptores en las muestras analizadas para los canales R, G y B. A: sección analizada para distancias; B: descriptores de distancias; C: Área entre valores de color 10-35; D: Área entre valores de color 100-150.

Los descriptores de áreas fueron 6, y se basaron en la medida de las áreas representadas por los píxeles de los siguientes rangos de intensidad: Área 1: 255-150; Área 2: 150-100; Área 3: 100-75; Área 4: 75-50; Área 5: 50-35; Área 6: 35-10. Estas áreas se dividen dentro del rango de 0 a 255 atendiendo a la intensidad de luz capturada por cada foto-receptor y digitalizada en los píxeles de las imágenes capturadas, siendo 255 el máximo posible de luz captada

(blanco) y 0 ausencia de luz (negro). En la Figura 3-C y 3-D pueden observarse dos ejemplos de áreas para los rangos descritos sobre muestras reales. Los descriptores fueron extraídos de cada una de las imágenes de cada canal, por lo que de cada imagen original se obtuvieron 42 descriptores (3 canales x 12 descriptores). Estos parámetros fueron utilizados como variables dependientes y organizados en matrices multivariantes con el objetivo de facilitar el análisis estadístico posterior.

### **Análisis de textura**

La textura de la carne se caracterizó mediante el método de corte Warner-Bratzler descrito por varios autores (Barekat y Soltanizadeh, 2017; Ashie et al., 2002). Se realizó un ensayo de corte mediante el texturómetro "TA-TX2 Texture Analyzer" (Stable Micro Systems, Surrey, UK). 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. Las muestras se colocaron de forma individual para realizar la medición de resistencia durante el corte, previo calibrado de los parámetros seleccionados. Como sonda se utilizó una cuchilla de Warner-Bratzler (Novaković y Tomašević, 2017), (Xiong et al, 2006) con un accesorio rectangular con ranuras como guía. Se configuró una velocidad de 100mm/min (Bianchi et al, 2007). Se analizaron seis muestras por tratamiento y tiempo de muestreo y los resultados se expresaron en Newtons (N) por segundo (s).

### **Pérdida de masa durante el periodo de tratamiento enzimático y tras la cocción**

Para valorar el cambio de masa durante el periodo de tratamiento enzimático, todas las muestras fueron pesadas a tiempo 0 y posteriormente a cada toma de muestra, calculándose la pérdida a partir de la diferencia de pesadas. En el caso de la pérdida de peso por efecto de la cocción, las muestras fueron pesadas antes y después de dicha cocción (tras atemperado de las muestras) y para cada tiempo de toma de muestra, calculándose la pérdida a partir de ambas pesadas.

### **Análisis estadístico**

Los datos de textura, pérdida de peso y del análisis de imagen se estudiaron mediante un análisis de la varianza múltiple (ANOVA) para determinar la significancia de los efectos principales de los factores sobre los parámetros estudiados. En aquellos casos con un efecto significativo (Valor P <0.05) la media fue comparada con el intervalo LSD de Fisher. Por otra parte, el análisis de componentes principales (PCA) fue utilizado para reducir la dimensionalidad de la información obtenida a partir del análisis de imagen (Verdú et al, 2018a) y así facilitar el estudio del proceso.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

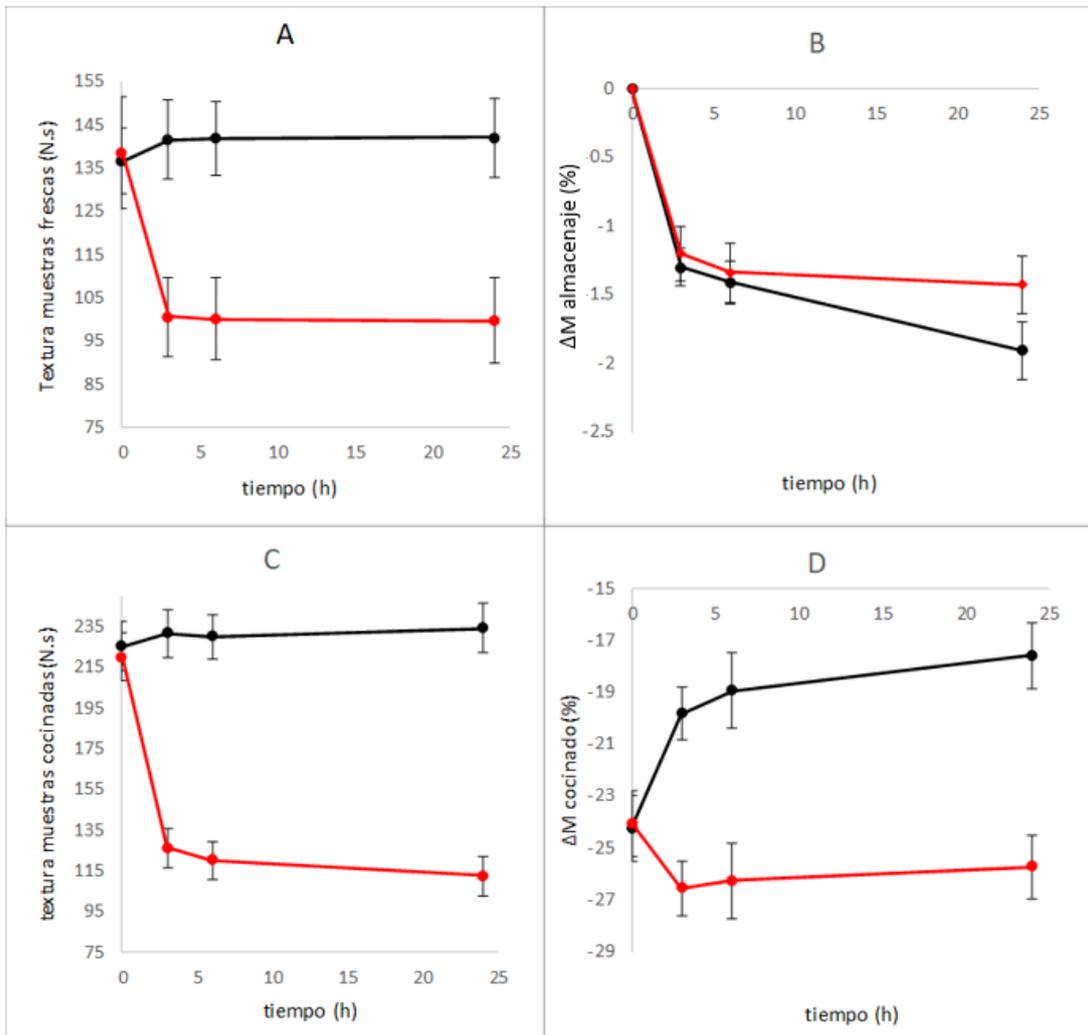
#### Efecto del tratamiento enzimático

La evolución de la textura de las muestras se evaluó a través de los datos obtenidos mediante el ensayo de texturometría a diferentes tiempos de almacenamiento. La Figura 4-A muestra la evolución del trabajo (N.s) a través del tiempo de almacenamiento para las muestras control y las tratadas enzimáticamente. El análisis ANOVA multifactorial reveló la significancia de los efectos principales de ambos factores, tiempo y tratamiento enzimático, siendo el F-ratio mayor para este último.

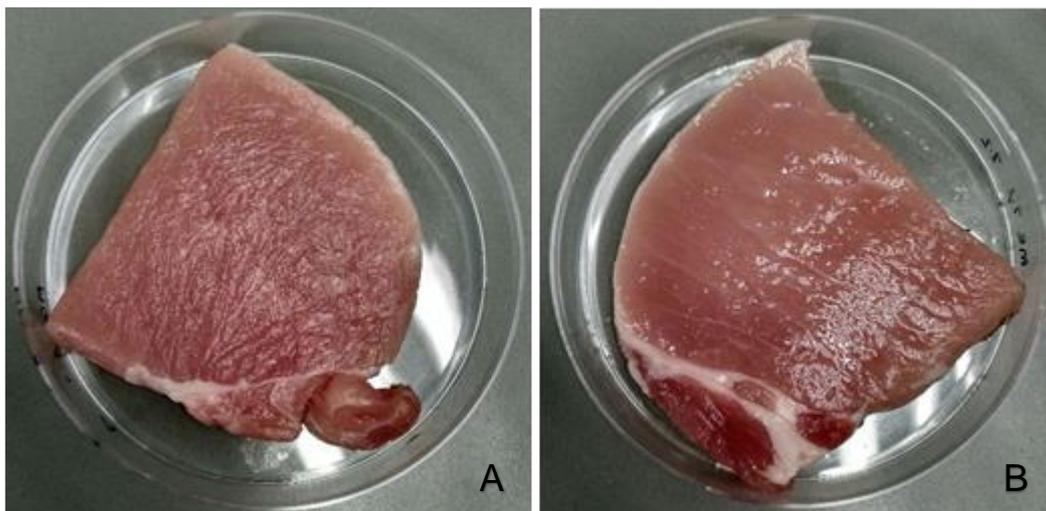
Se pudo observar como los valores de textura de las muestras tratadas enzimáticamente sufrieron un descenso importante durante las tres primeras horas de almacenamiento, manteniéndose prácticamente constante hasta las 24h. Por el contrario, las muestras control presentaron un ligero endurecimiento hasta las 3h, no mostrando ya evolución hasta las 24h. La papaína añadida a las muestras sería la responsable de esta gran pérdida de dureza durante las 3 primeras horas al provocar la 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). En cambio, el ligero incremento observado en las muestras control durante las 3 primeras horas podría atribuirse a la pérdida de agua durante el almacenamiento. La Figura 4-B muestra la evolución del incremento de masa ( $\Delta M$  %) durante dicho almacenamiento. Se observa como hasta las 6h ambas categorías de muestras pierden masa uniformemente, sin embargo, sólo la control sigue perdiendo peso hasta las 24h. La pérdida de agua durante las 3 primeras horas estaría favorecida por el proceso de congelación / descongelación de las muestras que provocaría el incremento en la textura de las muestras control pero que no se ve reflejado en los valores de las muestras tratadas con papaína dada la acción tan drástica de esta sobre la textura.

A partir de las 6h, la pérdida de peso que se sigue observando en las muestras control y que no provoca cambios en la textura podría estar ligada a la actividad de los enzimas endógenos, calpaínas y catepsinas, y su acción sobre la estructura de la carne (Chéret et al., 2007; Dransfield y Sosnicki, 1999) que minimizaría los cambios en textura, a la vez que reduciría su capacidad de retención de agua (Fulladosa et al., 2017) y por consiguiente favorecería la pérdida de agua.

En el caso de las muestras con papaína, a partir de las 3h el enzima reduciría su actividad y por tanto se minimizaría tanto los cambios de textura como de pérdida de agua, la cual también se ve afectada por la formación de un gel superficial en las muestras tratadas con el enzima que impide la fuga de humedad de la matriz (Ashie et al, 2002), además del efecto higroscópico que presenta el enzima en polvo como soluto propiamente dicho (Istrati, 2008). La Figura 5-A muestra una muestra control, mientras la Figura 5-B una con papaína en la que se puede observar una capa brillante superficial de gel la cual suaviza la superficie de esta.



**Figura 4.** Evolución del trabajo (N.s) (A) y del incremento de masa (%) (B), a través del tiempo de almacenamiento y después del cocinado para cada tiempo, (C) y (D) respectivamente, para las muestras control (líneas negras) y las tratadas enzimáticamente (líneas rojas).



**Figura 5.** Detalle de gel formado sobre muestras de carne. A: Muestra control. B: Muestra tratada con enzima.

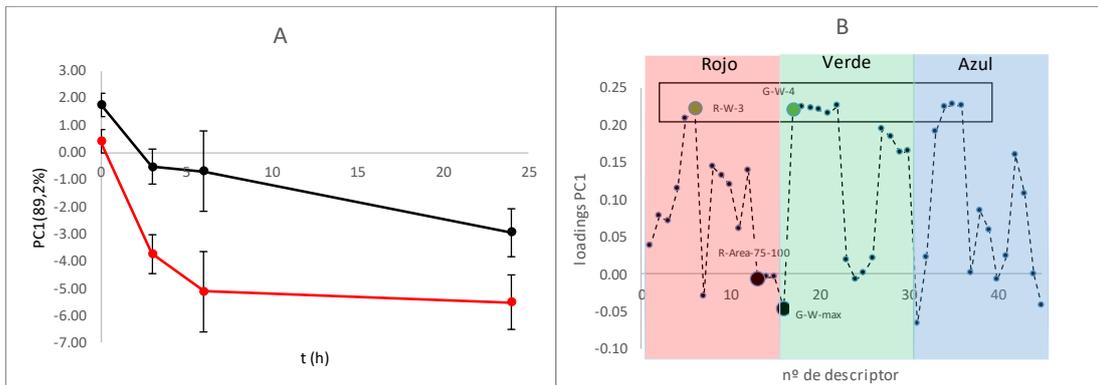
Los resultados de los análisis de textura para las muestras cocinadas se muestran en la Figura 4-C. Como se observa, los resultados fueron equivalentes a los observados para las muestras sin el tratamiento térmico (Figura 4-A), si bien con valores de textura más elevados. Es decir, el proceso de cocción generó un endurecimiento de todas las muestras, si bien el incremento para las muestras tratadas con el enzima fue mucho menor. Así, a las 3h, las muestras control experimentaron un incremento en la textura de aproximadamente 90 unidades, mientras que las tratadas con el enzima sólo de 26.

En cambio, la variación de masa generada por el cocinado fue muy diferente para ambos tipos de muestras. Las muestras control redujeron la pérdida de peso al incrementar el tiempo dado que su contenido inicial en agua (antes de cocción) cada vez era menor (Figura 4-B) y por tanto menor la cantidad que poder perder. Las muestras tratadas con papaína por el contrario incrementaron la pérdida de peso con 3h de tratamiento enzimático, manteniéndose constante para el resto de los tiempos. La gran desestructuración generada por el enzima facilitó la pérdida de agua durante la cocción a la vez que de solutos, manteniéndose constante para el resto de tiempo dado que para estos ya no existen cambios importantes (Figura 4-A y 4-B).

### **Análisis de imagen**

Una vez obtenidos los descriptores y tras la aplicación del método estadístico de PCA se obtuvo una componente principal (PC1) con un 89,2% de la varianza total capturada durante el proceso la cual agrupó

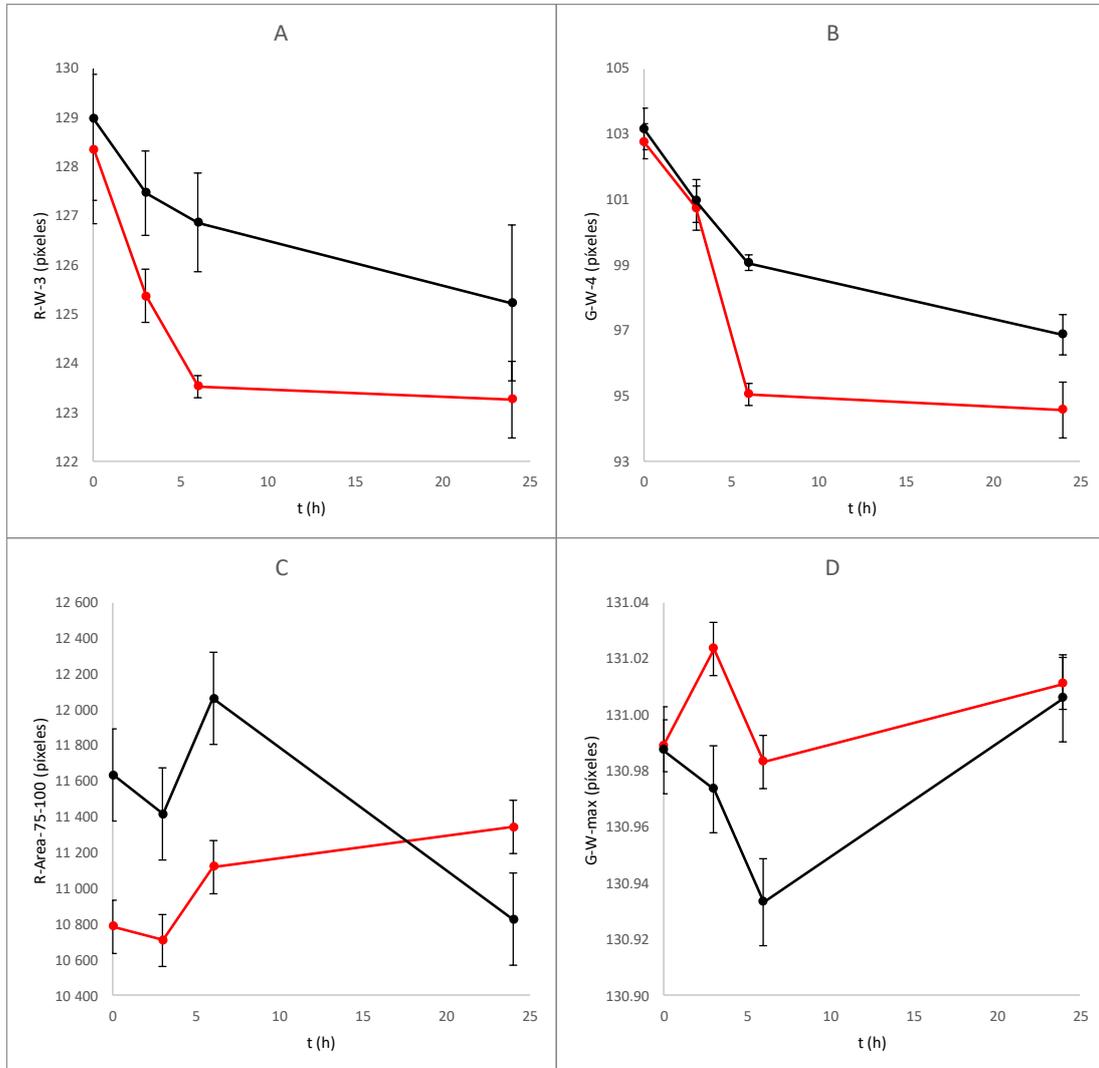
espontáneamente las muestras de modo que se pudieron etiquetar quedando agrupadas en base al tratamiento enzimático y al tiempo de acción del enzima. Los valores obtenidos para PC1 se presentan frente al tiempo en la Figura 6-A. Para ambos tipos de muestras, los valores de la PC1 disminuyeron con el tiempo, siendo este descenso sostenido para las muestras control. En cambio, las muestras con papaína presentaron un descenso brusco durante las primeras 6h, siendo a partir de este tiempo la variación de la PC1 mínima. Es de resaltar como los valores de la PC1 a tiempo 0 no fueron iguales. Esto fue debido a la formación del gel en la superficie de las muestras con papaína (Figura 5) el cual produce un patrón de difracción diferente en la carne.



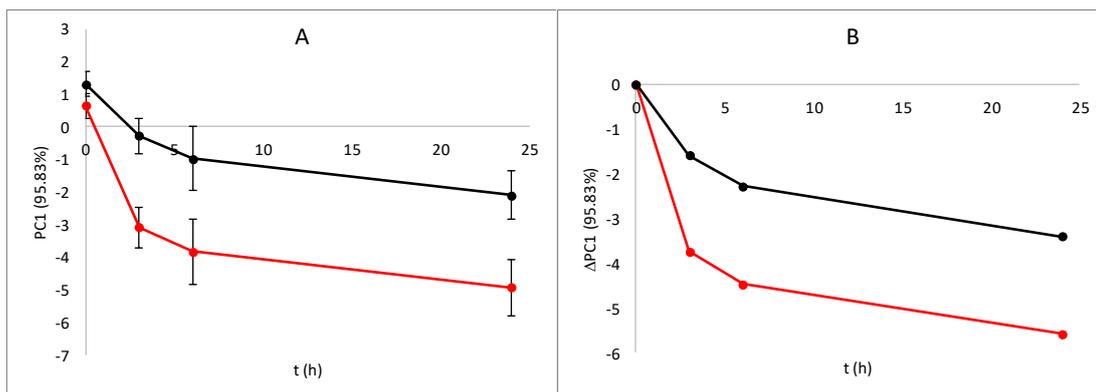
**Figura 6.** Evolución de la componente principal 1 del estudio de PCA (A). “Loadings” o cargas de varianza de cada uno de los descriptores sobre el total de la varianza explicada por el PC1 (B).

El análisis de los “loadings” o cargas de varianza de cada uno los descriptores sobre el total de la varianza explicada por el PC1 se muestran en la Figura 6-B. Como se observa, los descriptores que tuvieron un mayor peso fueron los pertenecientes al canal verde y correspondientes a los W (descriptores de distancia), si bien también las áreas comprendidas entre el tono 100 y 0. El canal azul aportó fundamentalmente descriptores W, al igual que el canal rojo, del cual los descriptores W-2 y 3 fueron los más influyentes. La Figura-7 A y B muestra la evolución del valor absoluto de dos de los descriptores con mayor carga R-w-3 y G-w-4, respectivamente, mientras que la Figura-7 C y D dos descriptores con carga mínima sobre el PC1 (R-Area-75-100 y G-W-max, respectivamente). Para las dos primeras, el comportamiento fue muy similar al observado por la PC1 lo que demuestra la gran influencia de estos descriptores sobre el modelo PCA. En cambio, los descriptores de las Figuras 7 C y D, con menor peso en el modelo, tuvieron un comportamiento más caótico, generando “ruido” en el modelo. Así, cuando se realizó de nuevo el modelo PCA empleando sólo los descriptores de mayor peso y que aparecen en el recuadro de la Figura 7-B, se obtuvo un resultado en el que la PC1 expresó el 95,83 % de la varianza total capturada. La Figura 8-A y B muestran respectivamente los nuevos valores de la PC1 y su

incremento con respecto al valor inicial ( $\Delta PC1$ ). Como se aprecia, el  $\Delta PC1$  a partir de las 3h se mantiene paralelo para ambos tipos de muestras lo cual estaría reflejando que, en base a las medidas de imagen, las principales diferencias entre las dos muestras se generan durante las tres primeras horas, al igual que se había observado para la textura (Figura 4-A).



**Figura 7.** Las Figura-7 A y B muestra la evolución del valor absoluto de dos de los descriptores con mayor carga R-w-3 y G-w-4 respectivamente, mientras que las Figura-7 C y D muestran dos descriptores con carga mínima sobre el PC1.



**Figura 8.** Evolución de la componente principal 1 (A) y de su incremento con respecto a tiempo 0 (B) para el nuevo estudio de PCA utilizando los descriptores de mayor influencia observados en el primer PCA (Figura 6-B).

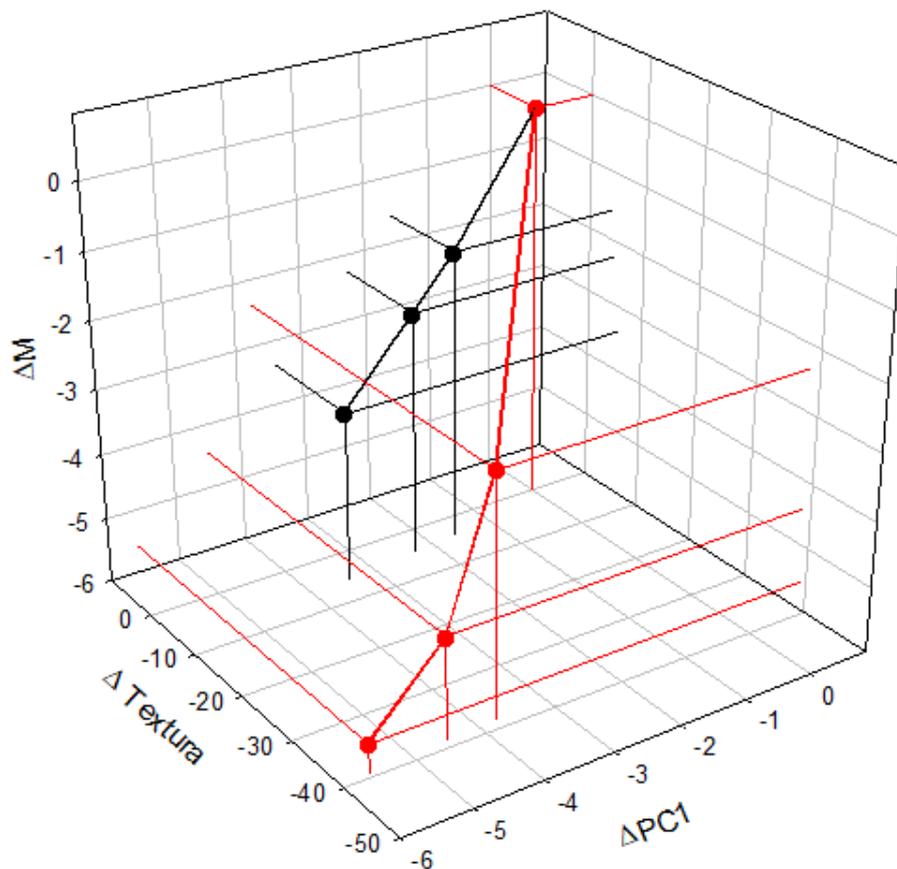
### Relación entre datos de imagen y fisicoquímicos

Dado que la técnica de imagen utilizada se basa en la medición de la interacción de una luz con una matriz orgánica, y que cualquier cambio en la misma, tanto químico como físico, puede producir modificaciones en el patrón láser estudiado, se procedió a evaluar la relación entre los valores de imagen que caracterizaron cada muestra, es decir los valores de PC1, con los propios medios en textura y variación de masa.

En general, la tendencia descendente observada en los valores del PC1 hacen referencia al descenso de transmitancia con el paso del tiempo. Dicho descenso está relacionado con modificaciones tanto físicas como químicas sufridas por la matriz, las cuales reducen, en este caso, no solo la cantidad de luz transmitida, sino también el patrón formado en la superficie tras su paso, y con ello la variabilidad recogida por los descriptores diseñados (Mollazade et al, 2012).

En la Figura 9 se muestra la relación entre el incremento de los valores de la nueva PC1 (eje X), textura (eje Y) y masa (eje Z). Como se observa, los cambios producidos en los patrones láser, y representados por los valores de la PC1, para las muestras control son principalmente debidos a cambios en la composición por modificaciones en el contenido en agua dado que no se observan cambios en la textura. En cambio, para las muestras tratadas, estos se asocian tanto a los cambios en el agua como en la textura, los cuales se dan fundamentalmente en las 6 primeras horas como consecuencia de la degradación proteica.

Este resultado viene a reforzar la idea que, si bien la estructura sólida de la muestra tiene un gran efecto sobre el patrón láser descrito, también la tiene su contenido en agua y la relación entre el espacio ocupado por el agua o por el aire, dado que el índice de refracción de ambos es diferente.



**Figura 9.** Relación entre el incremento de los valores de PC1 obtenidos del PCA realizado con los descriptores más influyentes (eje X), textura (eje Y) y masa (eje Z).

Así, tanto la pérdida de humedad como la desestructuración de la matriz proteica tienen impacto sobre la información recogida por los descriptores de imagen, la cual podría estar relacionada con las características de las muestras tras la cocción dada la relación existente entre las características evaluadas antes y después de la cocción (Figura 4). Para evaluar este concepto de forma teórica, se procedió a modelizar las relaciones existentes entre los parámetros evaluados antes y después de la cocción para las muestras tratadas con el enzima.

En la Figura 10-A se ha relacionado la PC1, obtenida utilizando los descriptores más influyentes, con los valores de textura de las muestras antes y después de la cocción, pudiéndose generar un modelo respectivamente, los cuales se muestran en la Tabla 1. Ambos modelos tuvieron un  $R^2$  elevado lo que refleja como la variación de los patrones láser con el tiempo está relacionada con la textura de la carne antes de la cocción y como esta a la vez está relacionada con la textura de la misma tras la cocción.

Por otro lado, también se relacionó la textura de las muestras tras su cocción con los valores de pérdida de peso por efecto de la cocción (Figura

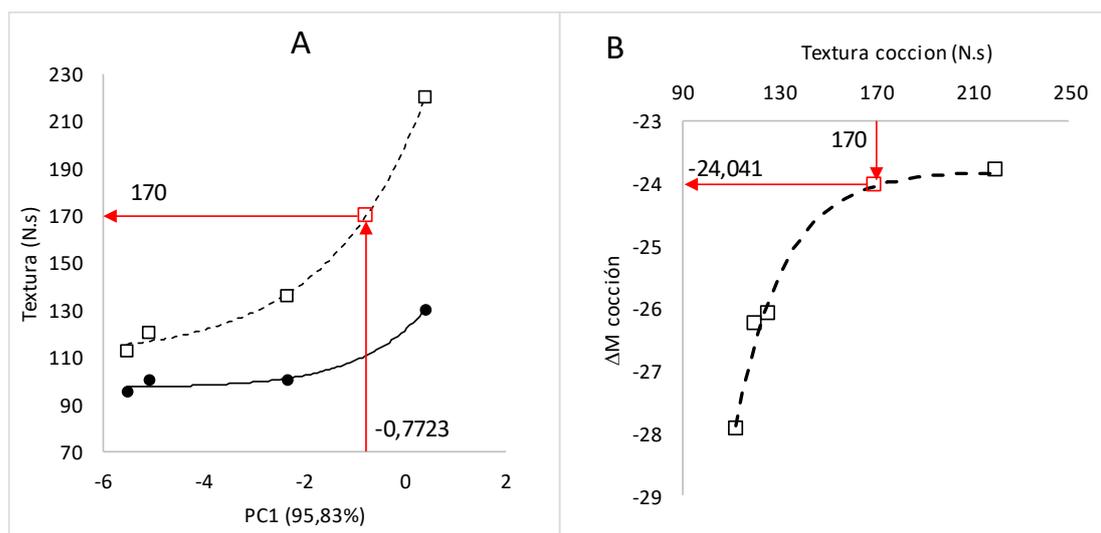
10-B). Dicha relación pudo ser modelizada, obteniéndose una ecuación con un valor de  $R^2$  elevado (Tabla 1). Este resultado manifiesta como la textura tras la cocción fue dependiente totalmente del agua perdida durante esta.

A través de estos modelos, y de forma teórica, se podría predecir cómo sería una muestra tras su cocción, evaluándola antes mediante la técnica de imagen. En la Figura 10, a modo de ejemplo se ha representado cómo sería dicha predicción. Así, una vez obtenida la PC1 de la lectura de la muestra previo a su cocción, en este caso -0.7723, se introduciría en el modelo 2, obteniéndose la textura que tendría la muestra tras su cocción (para el ejemplo 170 N.s). Una vez caracterizada la textura tras cocción y mediante el modelo 3, se obtendría cual sería la pérdida de peso que sufriría la muestra, en el ejemplo -24,041%.

De esta forma, evaluando la carne fresca se podría saber cómo sería la misma después de su cocción e incluso si los modelos fueran lo suficientemente robustos definir el tiempo óptimo para alcanzar la textura deseada.

**Tabla1.** Modelos que relacionan los scores de la PC1 con los valores de textura previo o cocción (1) y tras cocción (2), así como la textura tras la cocción con la pérdida de masa durante esta (3).

Modelo	ecuación	$R^2$
1	$y=23,94578*\exp(0,80014x) + 97,08401$	0,98430
2	$y=89,12906*\exp(0,52034x) + 110,36685$	0,99712
3	$y=-1059,5628*\exp(-0,049551x) - 23,80787$	0,98218



**Figura 10.** Relación entre los scores del PC1 con la textura de las muestras antes y después de cocción (A). Relación la textura tras la cocción con la pérdida de masa durante esta (B).

## **4. CONCLUSIONES**

El análisis de patrones de dispersión láser permite caracterizar el estado de la carne, aportando información sobre los cambios que se dan en su textura y/o contenido en agua de una forma continua y no destructiva.

La aplicación de la papaína en superficie favorece la formación de un gel que retiene el agua de las muestras si bien, la gran actividad del enzima la cual genera una disminución drástica de la textura, favorece la pérdida de agua durante la cocción al disminuir la capacidad de retención de agua de la proteína cárnica.

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 con los valores de textura y pérdida de agua de las muestras a lo largo del estudio. Esta correlación se mejora cuando se utilizan únicamente los descriptores más influyentes los cuales fueron principalmente los de distancia (W) generados en el canal verde. Esta relación ha permitido, de una forma teórica, obtener modelos que pueden predecir cual será la textura y la pérdida de agua de una muestra tras su cocción lo cual es interesante dado que permitiría definir el tiempo de cocción.

Se requieren nuevos estudios con el fin de incrementar la calidad de los resultados obtenidos para hacerlos más robustos y que permitan poder ser aplicados, combinando por ejemplo diferentes técnicas de análisis de imagen, espesores de carne, etc.

## **5. AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (España) por el apoyo financiero proporcionado a través del Proyecto RTI2018-098842-B-I00.

## **6. BIBLIOGRAFÍA**

- Adebayo S. E.; Hassim, N.; Adban, K.; Hanafi, M. 2016. Application and potential of backscattering imaging techniques in agricultural and food processing – A review. *Journal of Food Engineering*. 169. 155-164.
- Ashie, I. N. A.; Sorensen, T. L.; Nielsen, P. M. Effects of Papain and a Microbial Enzyme on Meat Proteins and Beef Tenderness. 2002. *Journal of Food Science*. 67:2. 2138-2142.

- Barekat, S.; 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.
- Chang H.; Wang, Q., Xu, X.; Li, C.; Huang, M.; Zhou, G.; Dai, Y. 2011. Effect of heat-induced changes of connective tissue and collagen on meat texture properties of beef semitendinosus muscle. *International Journal of Food Properties*. 14:381–396.
- Chen, J.; Rosenthal, A. 2015. *Modifying Food Texture. Volume 2, Sensory Analysis, Consumer Requirements and Preferences*. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Chéret, R., Delbarre-Ladrat, C., De Lamballerie-Anton, M.; Verrez-Bagnis, V. 2007. Calpain and cathepsin activities in post-mortem fish and meat muscles. *Food Chemistry*, 101(4), 1474-1479.
- Damez, J. L.; Clerjon, S. 2008. Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. *Meat Science*. 80: 132-149.
- Dransfield, E.; Sosnicki, A. A. 1999. Relationship between muscle growth and poultry meat quality. *Poultry science*, 78(5), 743-746.
- Fulladosa, E.; Rubio-Celorio, M.; Skytte, J.L.; Muñoz, I.; Picouet, P. 2017. Laser-light backscattering response to water content and proteolysis in dry-cured ham. *Food Control*. 77. 235-242.
- 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.
- Marques, A. C.; Maróstica Jr, M. R.; Pastore, G.M. *Some Nutritional, Technological and Environmental Advances in the Use of Enzymes in Meat Products*. 2010. *Enzyme Research*. 1-8.
- Mollazade, K.; Omid, M.; Tab, F. A.; Kalaj, Y. R.; Mohtasebi, S. S.; 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.
- Mollazade, K.; Omid, M.; Tab, F. A.; Kalaj, Y. R.; Mohtasebi, S. S. 2012. Principles and Applications of Light Backscattering Imaging in Quality Evaluation of Agro-food Products: a review. *Food Bioprocess Technology*. 5:1465–1485.
- Novaković, S.; Tomašević, I. 2017. A comparison between Warner-Bratzler shear force measurement and texture profile analysis of meat and meat products: a review. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 85. 1-6.
- Pérez-Santaescolástica, C.; Fraeye, I.; Barba, F. J.; Gómez, B.; Tomasevic, I.; Romero, A.; Moreno, A.; Toldrá, F.; Lorenzo, J.M. 2019. Application of non-invasive technologies in dry-cured ham: An overview. *Trends in Food Science & Technology*. 86. 360-374.
- Rahim, H.A; Ghazhali, R. 2014. Prediction of Raw Poultry Meat Texture Using PLS Analysis. *Sensors & Transducers*. 169. 49-54.
- Xiong, R.; Cavitt, L.C.; Meullenet, J.F.; Owens, C. M. 2006. Comparison of Allo–Kramer, Warner–Bratzler and razor blade shears for predicting sensory tenderness of broiler breast meat *Journal of Texture Studies*. 37.179–199.

- Verdú, S.; Pérez, A.J.; Barat, J. M.; Grau, R. 2018. Laser backscattering imaging as a control technique for fluid foods: Application to vegetable-based creams processing, *Journal of Food Engineering*, 241, 58-66.
- Verdú, S.; Pérez, A.J.; Barat, J. M.; Grau, R. 2019a. Laser backscattering imaging as a non-destructive quality control technique for solid food matrices: Modelling the fiber enrichment effects on the physico-chemical and sensory properties of biscuits. *Food Control*, 100, 278:286.
- Verdú, S.; Pérez, A.J.; Barat, J. M.; Grau, R. 2019b. Nondestructive 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.