

**UNIVERSITAT POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA**



ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA
I DEL MEDI NATURAL



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

**ESTUDIO Y CARACTERIZACIÓN DEL PRE-TRATAMIENTO
ENZIMÁTICO CON PAPAÍNA EN LA TEXTURA DE CARNE
DE CERDO. EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO.**

TRABAJO DE FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

AUTOR: MIGUEL DÍAZ POBO

TUTORES: RAÚL GRAU MELO

PAU TALENS OLIAG

TUTOR EXPERIMENTAL: SAMUEL VERDÚ AMAT

CURSO ACADÉMICO: 2019-2020

VALÈNCIA,

ESTUDIO Y CARACTERIZACIÓN DEL PRE-TRATAMIENTO ENZIMÁTICO CON PAPAÍNA EN LA TEXTURA DE CARNE DE CERDO. EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO.

RESUMEN

En este trabajo se han estudiado algunas de las propiedades físicas de la carne, tales como la textura o la apariencia visual, a partir de la realización de diversas técnicas experimentales con el objetivo de comprender mejor los efectos de la aplicación de la enzima papaína en carne, cuyo carácter proteolítico es bien conocido, y el efecto que la cocción puede tener sobre la textura final de esta.

Para su realización se utilizó lomo de cerdo de venta comercial, el cual se preparaba posteriormente en trozos de aproximadamente 2x2x2cm. Una vez cortadas las muestras, eran tratadas con la enzima, mediante una secuencia de inyecciones. Se realizó también un tratamiento térmico sobre una parte de las muestras, con objeto de estudiar las diferencias estructurales y visuales existentes entre las tratadas con enzima y las que no.

La textura se estudió mediante un método de compresión TPA de las muestras en un analizador de textura denominado TA-TX2 texture analyzer. Además, se tomaron imágenes de las muestras con tratamiento térmico antes y después del análisis de textura y fueron analizadas mediante el software Fiji. También se realizó un análisis sensorial para evaluar la dureza y la apariencia de las muestras con tratamiento térmico, esta, por su parte, consistió en dos pruebas, una triangular de similitud, y una escala de intensidad.

Con los resultados se ha podido apreciar las diferencias de comportamiento físico y estructural de la carne inyectada con enzima y no, así como el gran efecto que el tratamiento térmico tiene sobre las muestras tratadas. El estudio sienta bases para futuras aplicaciones en productos cárnicos con textura modificada, apropiados para individuos con trastornos alimenticios o dificultades relacionadas con la masticación y deglución de los alimentos.

PALABRAS CLAVE: Carne de cerdo, papaína, textura, cocción, deglución

Autor: Díaz Pobo, Miguel

Tutor: Grau Melo, Raúl

Talens Oliag, Pau

Tutor experimental: Verdú Amat, Samuel

STUDY AND CHARACTERIZATION OF ENZYMATIC PRE-TREATMENT WITH PAPAIN ON THE PORK MEAT TEXTURE. HEAT TREATMENT EFFECT.

ABSTRACT

Some of the physical properties of meat, such as texture or visual appearance, have been studied from the performance of various experimental techniques, in order to understand better the effects of the application of the papain enzyme, whose character proteolytic is well known.

For its realization, commercially sold pork loin was used, which was subsequently prepared in pieces of approximately 2x2x2cm. The samples were inoculated with the enzyme through a sequence of injections. Thermic treatment was also carried out on a part of the samples, in order to study the structural and visual differences between those inoculated and those that were not.

The texture was studied using a TPA compression method of the samples in a specific device called TA-TX2 texture analyzer. Thermic treated samples were analyzed by the image using the software Fiji. Sensory analysis was also carried out to evaluate the hardness and appearance of the samples with heat treatment, which consisted of two tests, a triangular similarity test and an intensity scale. Moisture determination was carried out by the oven drying method.

With the results it has been possible to appreciate the differences in physical and structural behavior between the meat that was inoculated and that which was not, as well as the effects of the heat treatment on the samples. This study may be useful for future applications in developing meat products with modified texture, specially focused on individuals with eating disorders or difficulties related to chewing and swallowing food.

KEY WORDS: Pork, papain, texture, cooking, swallowing

Author: Díaz Pobo, Miguel

Tutor: Grau Melo, Raúl

Talens Oliag, Pau

Tutor experimental: Verdú Amat, Samuel

AGRADECIMIENTOS

Agradecer al “Ministerio Español de Ciencia e Innovación” por el apoyo financiero brindado a través del Proyecto RTI2018-098842-BI00.

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	3
3.2. Diseño experimental	3
3.3. Análisis de textura	4
3.4. Análisis de humedad	5
3.5. Tratamiento Térmico.....	5
3.6. Análisis de Imagen.....	5
3.7. Análisis sensorial	5
3.7.1. Prueba triangular.....	6
3.7.2. Escala de intensidad	6
3.8. Análisis estadístico	7
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	7
4.1. Efecto del tratamiento enzimático en la textura de la carne.....	7
4.2. Efecto de la humedad	8
4.3. Tratamiento térmico. Determinación del tiempo de cocción.....	9
4.4. Efecto de la cocción en la textura de carne pre-tratada con papaína.	10
4.5. Correlación de Imagen y Textura	11
4.6. Análisis sensorial	12
5. CONCLUSIONES	13
6. BIBLIOGRAFÍA	14

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
TABLA 1	Ficha de cata	6

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
FIGURA 1.	Evolución de las variables Fuerza (Newtons) (A), Elasticidad (B), Cohesividad (C) y Masticabilidad (D), con respecto al Tiempo (horas), para las muestras Control, Agua y Enzima.	8
FIGURA 2.	Variación Humedad (%) con respecto a Tiempo (horas)	9
FIGURA 3.	de valores de Temperatura (Cº) frente a Tiempo (min) de duración del tratamiento térmico.	9
FIGURA 4.	Evolución de las variables Fuerza (Newtons) A, Elasticidad B, Cohesividad C y Masticabilidad D con respecto al Tiempo (horas), para las muestras Control, Agua, Enzima, Agua Inmersión y Enzima Inmersión.	10
FIGURA 5.	Imágenes a la hora de estudio de las muestras Control, Agua y Enzima, tomadas antes (AT) y después del TPA (DT).	11
FIGURA 6.	Representación del Incremento de Área de imagen porcentual (Δ Area%) frente a Tiempo (h) (A) y representación Dureza (N) frente Incremento de Área de imagen porcentual (Δ Area%) (B), para las variables: Agua (A), Control (C), Enzima (E), Agua con inmersión (Ai) y Enzima con inmersión (Ei).	12
FIGURA 7.	Representación de los resultados de la prueba triangular (A), de la Intensidad de la textura media percibida por los jueces (B) e Intervalo de intensidad elegido por juez (C), para las variables; sin tratamiento enzimático (C) y con tratamiento enzimático (E).	12

1. INTRODUCCIÓN

Una de las propiedades fundamentales a la hora de caracterizar la calidad de la carne es la textura. La textura está definida por una serie de características, las cuales no pueden pasar desapercibidas a la hora de evaluar la calidad del producto y por tanto, satisfacer las expectativas del consumidor. Las características que definen la textura se pueden clasificar en tres grupos; mecánicas, geométricas y aquellas relacionadas con la humedad y el contenido graso (Szczesniak, 1962).

El músculo consta de 75% de agua, 20% de proteína, 3% de grasa y 2% de sustancias no proteicas solubles (Tornberg, 2005). La estructura de la carne consiste en un aglomerado de fibras paralelas o miofibras, las cuales permanecen unidas bajo una red de tejido conectivo (Bouton et al., 1975). Estas fibras constituyen el 75-92% del volumen muscular total, y sostienen estructuras largas en forma de hilo, las miofibrillas, en donde el sarcómero, la unidad contráctil más pequeña, está alineada. Se consideran como principales factores que afectan a la textura de la carne las proteínas miofibrilares, el citoesqueleto muscular, el tejido conectivo intramuscular (Jones et al., 1977 y Silva et al., 1993) y las intrafibras de agua (Currie y Wolfe, 1980). Las proteínas miofibrilares constituyen entre el 50 y el 55% del contenido total de proteínas, mientras que las proteínas sarcoplásmicas representan aproximadamente el 30-34%. El 10-15% restante de las proteínas son las proteínas del tejido conectivo. Las proteínas miofibrilares se dividen en tres subclases: las proteínas fibrosas miofilamentosas miosina y actina que forman la estructura miofibrilar, las proteínas reguladoras que incluyen el complejo tropomiosina-troponina, actina α y β , proteína M y proteína C y, en última instancia, proteínas de almacén, como titina, nebulina, desmina, vimentina y sinemina, que apoyan toda la estructura miofibrilar.

Durante el calentamiento del tejido muscular se producen cambios en la estructura debidos al incremento de la temperatura. Así, hasta los 50°C hay un leve efecto sobre la estructura, mientras que a los 50°C se comprimen las proteínas miofibrilares. Es a partir de los 60°C cuando se produce la coagulación de los filamentos gruesos y finos, además de una mayor contracción miofibrilar y la granulación del sacrolema. A los 70°C, se produce la fragmentación miofibrilar en el disco Z y la contracción completa del endomisio y a 80°C se desintegran los filamentos más delgados y comienzan a gelatinizar las fibras de colágeno. Finalmente a los 90°C la estructura se torna amorfa (Cheng y Parrish, Jr, 1976 ; Jones et al., 1977).

Está generalmente aceptado que mientras los cambios derivados del efecto del calor sobre el tejido conectivo son de carácter suavizante, el endurecimiento por la cocción de las proteínas miofibrilares incrementan la robustez de esta. Si bien, hay que tener en cuenta que no solo es la temperatura la que influye sobre la textura de la carne, sino la combinación entre la temperatura y la velocidad del calentamiento la que afecta directamente al nivel de los cambios (Hearne et al., 1978^a, Laakkonen, 1973).

Uno de los métodos utilizados para la determinación de la textura de carne es el método de análisis de perfil de textura TPA (por sus siglas en inglés, Texture Profile Analysis). Este se presenta como un recurso para aportar a los investigadores datos sensoriales descriptivos y cuantitativos sobre las características texturales de los productos destinados a la alimentación. Destacan dos ventajas fundamentales en el empleo de este método, por un lado la flexibilidad de aplicación sobre casi cualquier producto alimenticio o característica de textura, y por otro lado, su objetividad por medio de puntos de referencia y nomenclatura estrictamente establecidos (Brandt, Skinner y Coleman, 1963).

El método de análisis TPA gracias a un ciclo de doble compresión, que simula el masticado, permite evaluar las variables: dureza, elasticidad, cohesión, adhesividad, gomosidad, masticabilidad, etc. En el caso de la carne, las variables dureza, elasticidad y cohesión nos permiten el cálculo de la masticación (Ruiz de Huidobro et al., 2004).

Si bien la textura de la carne es un parámetro muy apreciado por los consumidores, esta es fundamental para los grupos poblacionales con trastornos orales los cuales pueden deberse tanto a afecciones físicas y mentales crónicas como a necesidades físicas especiales. Estos trastornos suponen un efecto negativo significativo en el bienestar y la satisfacción en la vida de las personas (Locker, Matear y Jokovic, 2002). La capacidad para masticar alimentos está cada vez más reconocida como asociación directa al estado de salud general, ya que puede afectar a la hora de la elección dietética y la ingesta nutricional (Nowjack-Raymer y Sheiham, 2003). Así, la reducción del consumo de carne por su textura puede conllevar a un déficit nutricional el cual puede ser importante en un grupo poblacional como es el de la tercera edad.

Existen diferentes técnicas con el objetivo de mejorar la textura en la carne, entre las que se encuentran métodos mecánicos, químicos y enzimáticos entre muchos (Zuhaib F. Bhat et al., 2018). En el ámbito de las enzimas, la utilización de proteasas exógenas, como la papaína, está siendo tendencia actual de investigación dado que para la industria cárnica es prioritario poder cubrir la creciente demanda de garantía de ternura y ofrecer un valor agregado a los cortes de carne de menor calidad (Fernández - Lucas et al., 2017).

Más del 60% de la cuota del mercado global de enzimas, y aún en crecimiento, hace de las proteasas las enzimas comercializadas más importantes (Kumar et al., 2014).

La fuerte actividad proteolítica de la papaína sobre una amplia variedad de sustratos y su extensa gama de condiciones operativas han hecho que esta enzima lidere el mercado de las proteasas, superando a otras enzimas similares de origen vegetal. Europa y EEUU son los principales importadores de papaína, alrededor de 150-200 y 300-400 toneladas por año respectivamente. El suministro global sostenible de la enzima es altamente dependiente de las condiciones climáticas de los cultivos de papaya, así como de los posibles problemas políticos y económicos de sus países de origen. En los últimos años, los avances en la expresión de papaína recombinante podrían servir de solución al problema (Fernández - Lucas et al., 2017).

La papaína, como enzima proteolítica, aumenta la ternura y reduce la fuerza de corte hidrolizando las proteínas de la carne ya que mejora la solubilización de los grupos aminos libres y la hidroxiprolina, lo que provoca la pérdida de integridad del tejido muscular (Fogle et al., 1982). La consecuente degradación de las proteínas miofibrilares y de los enlaces cruzados intermoleculares de colágeno, componente fundamental del tejido conectivo, conduce al ablandamiento de la carne (Bailey y Light, 1989; Light et al., 1985; Liu et al., 1996). La enzima presenta un pH óptimo de 6.0 y una temperatura óptima de 70°C (Khaparde y Singhal, 2001) y es inactiva prácticamente a partir de 80°C (Katsaros, Katapodis y Taoukis, 2009).

El Reglamento (CE) No 1331/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo normaliza el uso de enzimas en los alimentos, establece un procedimiento común para evaluar y autorizar a los productores de alimentos el uso de las enzimas sobre sus productos. La papaína, así como otras enzimas, está recogida en dicho reglamento.

2. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo final de grado es el estudio del efecto del tratamiento térmico sobre la textura de carne de cerdo pre-tratada con papaína.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La realización del presente trabajo se enmarca dentro de un proyecto de investigación financiado por el Ministerio Español de Ciencia e Innovación (RTI2018-098842-BI00).

3.1. Materia Prima

3.1.1. Carne

Se emplearon en total 30 lotes de piezas de lomo de cerdo adquiridas en un supermercado local, las cuales fueron utilizadas el mismo día de su compra para garantizar su manipulación en fresco. En la preparación de las muestras del estudio, las piezas de lomo fueron cortadas en piezas de 20 mm x 20 mm x 20mm. Así, el total de muestras empleadas para el estudio fue de 500.

Con la finalidad de reducir el efecto lote, las muestras cortadas cada día de compra eran mezcladas y luego distribuidas aleatoriamente para realizar los pertinentes ensayos.

3.1.2. Enzima

Se utilizó papaína (Biocon, Les Franqueses del Vallés, España) hidrosoluble 30 000 -U/mg, un enzima de origen natural, de carácter proteolítico, con acción tanto endopeptidasa como exopeptidasa.

El objetivo principal de la introducción de la Papaína fue provocar cambios en las propiedades de la textura de la carne con y sin tratamiento térmico, así como relacionar su aplicación con los posibles cambios visuales de las muestras.

Se aplicó mediante la inyección de 1 cm³ de disolución de enzima en agua al 5% (m/m). La inyección se realizó equitativamente (0.1 cm³) en 10 puntos diferentes de la muestra situados siempre bajo un mismo patrón.

3.2. Diseño experimental

La experiencia se diseñó teniendo en cuenta los objetivos del estudio. Para ello, esta se dividió en dos grandes bloques de estudio encadenados; un primero en el que se estudió el efecto de la incorporación de la enzima sobre el tejido cárnico sin tratamiento térmico posterior (pre-tratamiento enzimático) y otro estudio para evaluar cómo influye el tratamiento térmico en la textura de carne pre-tratada con el enzima.

El estudio del pre-tratamiento enzimático consistió en evaluar mediante el análisis de la textura (TPA), acompañado por un análisis del contenido en humedad (método oficial de la AOAC), el efecto de la incorporación de enzima en las muestras y de diferentes tiempos de acción de estas (0, 1.5, 3, 4.5, 6 y 24 horas). Con la finalidad de identificar correctamente los cambios producidos sobre las muestras por la acción de la enzima, los ensayos se realizaron para tres tipos de muestras diferentes; control (C) sin inyección, inyectadas con el enzima (E) e inyectadas con agua (A). Estas últimas se adicionaron a la experiencia con la finalidad de evaluar los posibles cambios en las muestras debidos únicamente al proceso de inyección.

Para el estudio, una vez las muestras eran tratadas se depositaban en refrigeración durante el tiempo de acción del enzima (0, 1'5, 3, 4.5, 6 y 24 horas) tras el cual las muestras

eran extraídas y analizadas. Con la finalidad de minimizar el secado de las muestras durante el tiempo de permanencia en refrigeración, estas fueron introducidas en recipientes herméticos.

El estudio del efecto del tratamiento térmico por calor de muestras con pre-tratamiento enzimático se estructuró de la siguiente forma. Primeramente, las muestras fueron pre-tratadas de la misma forma que en el estudio anterior, con la diferencia que se introdujeron dos variables de muestras adicionales; muestras inyectadas con agua e inmersas en agua (Ai) y muestras inyectadas con el enzima e inmersas en una solución enzimática de la misma concentración que la inyectada (disolución de enzima en agua al 5% (m/m)) (Ei). El objetivo de la incorporación de estos dos nuevos tipos de muestras fue comprobar si de esta forma era posible amplificar el efecto del enzima en las muestras.

Para todas las muestras inyectadas en agua, (A y Ai), con el enzima (E y Ei), así como para las control (C), el tiempo de acción enzimática fueron de 0, 1'5 y 3 horas, ya que tras el estudio anterior de pre-tratamiento enzimático, se consideró que estos recogieron los resultados más significativos.

El tratamiento térmico se realizó para cada tiempo de acción enzimática. Este se llevó a cabo durante 12 minutos en baño a 90°C de temperatura. Dichas condiciones se establecieron con la finalidad de alcanzar 90°C en la zona más desfavorable de las muestras, temperatura a la que el enzima se inhibe. Para definir el tiempo necesario para alcanzar dicha temperatura, se realizó un estudio de transmisión de calor previo, el cual consistió en la realización de un registro de las medidas de temperatura en el interior de las muestras para progresivos tiempos de cocción. Para tal fin, las muestras fueron tratadas térmicamente como posteriormente se explica, registrándose la temperatura con un termómetro de punción.

Las muestras una vez tratadas térmicamente y atemperadas fueron analizadas. Estos se realizaron mediante un análisis de textura (TPA), uno de imagen capturando imágenes de las muestras antes y después del ensayo de TPA y uno sensorial.

3.3. Análisis de textura

Para la caracterización de la textura se empleó la técnica TPA (Texture Profile Analysis) mediante un equipo de medición de texturas convencional TA-TX2 texture analyzer (Stable Micro Systems, Surrey, UK) operado con el software Exponent (Stable Micro Systems Ltd, version 6.1.11.0) y utilizando una célula de carga de 75 mm de espesor. Los parámetros establecidos para el ensayo fueron; velocidades de Pre-Ensayo, Ensayo y Post-Ensayo, 8,00 mm/seg, 10.00 mm/seg y 12mm/seg respectivamente y con una deformación sobre las muestras del 50% aplicada durante 5 segundos.

A través del análisis se obtuvieron los valores de las propiedades de las texturales tales como Dureza (N), Elasticidad, Cohesividad, Gomosidad y Masticabilidad.

Las muestras, preparadas previamente según el tratamiento a estudiar, eran medidas una única vez y de forma individual, puesto que se trata de un análisis de tipo destructivo. Para cada tratamiento se realizaron 10 repeticiones (disminuyendo así la posible variabilidad existente de las distintas muestras de carne).

3.4. 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).

Una vez preparadas las muestras e introducidas en la estufa, se estableció una temperatura de 100°C durante un periodo de 24h, obteniendo se así la variación del porcentaje de agua en las distintas variables del estudio en crudo.

3.5. Tratamiento Térmico

Con la finalidad de evaluar cómo influye el tratamiento térmico sobre la textura de las muestras pre-tratadas con el enzima, estas se introdujeron en bolsas de plástico y fueron cocinadas de forma individual por grupos de hasta 5 muestras. Las bolsas, sujetadas con una piza se sumergieron en agua hirviendo hasta alcanzar en su interior una temperatura de 90°C.

El método de cocción en bolsa se escogió con la finalidad que reducir la interacción entre el medio de cocción y el alimento. La temperatura de 90 °C se estableció dado que el enzima a esta temperatura es inhibido (Katsaros et al., 2009).

Para determinar el tiempo necesario para que las muestras alcancen los 90°C se realizaron estudios de penetración de calor tanto en muestras control como con muestras inyectadas. Para ello se prepararon muestras y a diferentes tiempos se fueron sacando y midiendo tanto la temperatura como la variación de masas. Se realizaron varias repeticiones de cada tiempo para disminuir el posible error ocasionado por la dificultad de obtener homogeneidad en las muestras de carne.

3.6. Análisis de Imagen

Este estudio se realizó con la finalidad de evaluar la capacidad de medición del análisis de imagen en cuanto a las propiedades de la textura de la carne. Para ello se tomaron imágenes de las muestras con tratamiento térmico antes y después del análisis de textura de forma que se pudieran observar los cambios físicos producidos por el análisis sobre los trozos de carne.

Para el ensayo se utilizó una cámara Logitech C922 Pro Stream Webcam para realizar las fotografías, y un iluminante de luz blanca halógena. Todo el sistema estaba situado en el interior de una cámara oscura con la finalidad de eliminar la interacción de la luz ambiental. Para el tratamiento de las imágenes y obtención de las áreas de píxeles se utilizó el software informático de análisis de imagen Fiji.

3.7. Análisis sensorial

El análisis sensorial se basó en la norma UNE 87025, que describe la metodología para realizar el perfil de textura e incluye las diferentes etapas que se deben seguir para describir la textura de un producto.

La metodología seleccionada para la evaluación de la dureza y la apariencia de las muestras con tratamiento térmico, consistió en dos pruebas, una prueba triangular y una escala de intensidad. Como datos del catador, se preguntó la edad y el sexo (Tabla 1). Se eligieron estas pruebas dado que los resultados mostraron como de la totalidad de las variables, estas se podían reducir finalmente a dos tipos de muestras.

TABLA 2 Ficha de cata

Edad _____	Sexo H__ M__
<p>A continuación, le presentaran unas muestras para una inspección visual.</p> <p>Cata 1: De las siguientes muestras, ¿cuál de ellas le parece distinta visualmente? _____</p> <p>Cata 2: De las siguientes muestras, ¿cuál de ellas le parece distinta visualmente? _____</p>	
<p>A continuación, le presentarán unas muestras para que evalúe su dureza.</p> <p>Cata 3: Muestra: _____</p> <p style="text-align: center;"> _____ _____ </p> <p style="text-align: center;">Muy dura Muy blanda</p> <p>Muestra: _____</p> <p style="text-align: center;"> _____ _____ </p> <p style="text-align: center;">Muy dura Muy blanda</p>	

3.7.1. Prueba triangular

La prueba se define como un procedimiento para determinar si existe diferencia o similitud sensorial perceptible entre muestras de dos productos, en este caso para muestras con y sin tratamiento con papaína. Se trata de un procedimiento de elección forzada, aplicable en este caso para un único atributo sensorial a diferenciar, el visual, tal y como describe la norma para el análisis sensorial UNE-EN ISO 4120 (2008) que también recoge la metodología para su realización.

De forma aleatoria las muestras se dispusieron en grupos de tres, siendo cada una de ellas previamente codificada. Los grupos estaban compuestos por dos muestras con el mismo tratamiento, y una muestra diferente, pudiendo ser el caso de dos provenientes del tratamiento enzimático y una muestra control, o viceversa.

La pregunta realizada fue la siguiente: “De las siguientes muestras, ¿Cuál de ellas te parece distinta visualmente?”, esta prueba se realizó dos veces por catador.

3.7.2. Escala de intensidad

Esta prueba se realizó según las directrices de la norma UNE-ISO 4121 (2006) para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas. La respuesta obtenida indica la intensidad de la percepción, en este caso la dureza de las muestras.

Los catadores debían valorar la dureza de dos muestras, una tratada enzimáticamente y la otra no, en una escala comprendida entre el valor más bajo de dureza “Muy blanda” y el más alto “Muy dura”. Marcaron con una X el punto que

consideraron oportuno, en la escala de respuesta gráfica continua, tras realizar pruebas de compresión manual sobre las dos muestras con una espátula.

La escala de medida se correspondió con el intervalo que quedará representado sobre la escala gráfica, que posteriormente se tradujo a unidades métricas para el procesado de los datos.

3.8. Análisis estadístico

En el estudio se empleó el software Statgraphics Centurion XVII.11 versión 17.2.04. El valor del intervalo de confianza establecido fue del 95% y el de $p < 0,05$ estadísticamente significativo para todos los análisis.

Los resultados de los distintos análisis: textura, humedad, imagen y sensorial fueron analizados 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 valor del intervalo de confianza establecido fue del 95% y el de $p < 0,05$ estadísticamente significativo para todos los análisis.

El análisis de los datos de las fichas de cata se procesó mediante las tablas proporcionadas en la norma UNE-EN ISO 4120 (2008) y la Norma ISO 8587.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto del tratamiento enzimático en la textura de la carne.

Una vez los estudios fueron realizados, y los datos obtenidos fueron recopilados y analizados, se observaron los cambios de las distintas propiedades de la textura con respecto al tiempo y el tipo de muestra. (*S. Szczesniak, 1962*), define la dureza como la fuerza en Newton necesaria para ejercer la deformación dada, la cohesividad como la fuerza existente entre los enlaces internos de la muestra, la elasticidad como la velocidad necesaria para que un material retorne a su forma original tras eliminar la fuerza que se ha ejercido sobre este y la masticabilidad se obtiene a partir de estas tres características (*Ruiz de Huidobro et al., 2004*). De esta forma se han podido reflejar algunos de los cambios producidos en la microestructura de las fibras de la carne a causa de la acción proteolítica del enzima (*B.Gerelt, Y. Ikeuchi y A. Suzuki, 2000*).

El estudio del efecto del enzima en la textura de la carne (figura 1A) mostró como la dureza(N) de las muestras inyectadas, tanto con agua como con enzima, tuvieron valores iniciales superiores (120N) a los obtenidos para las control (78N). Esto pudo deberse a la presión ejercida por el líquido inyectado a tiempo 0. A partir de este tiempo, los valores descendieron para ambos tipos de muestras, si bien en el caso de las muestras inyectadas con agua se situaron en valores similares a los de los obtenidos para las muestras control, los cuales fueron constante durante las 24 horas de estudio. En el caso de las muestras tratadas con el enzima, el descenso fue más acusado siendo los valores inferiores a partir de las 1,5 horas, si bien aunque las diferencias fueron incrementándose hasta las 24 horas (22N), en este caso para el mismo tiempo un 67% de diferencia respecto al control, estas no fueron estadísticamente significativas.

En el caso de la elasticidad (figura 1B), se observó que a tiempo 0 los valores para todas las variables fueron similares, si bien en la sucesiva toma de muestra se pudo apreciar como

en la variable enzima se alcanzó un valor máximo promedio (0.69) a las 3 horas, para después descender paulatinamente hasta las 24 horas del estudio. Para las muestras control y las inyectadas con agua los valores fueron iguales a lo largo de la experiencia. En el caso de esta propiedad, se detectó una gran dispersión de los datos, y aunque los valores promedio de para las muestras tratadas con enzima fueron los más altos, los intervalos LSD fueron muy grandes, como se puede apreciar en Figura 1B, no existiendo diferencias significativas.

Los valores del parámetro cohesividad (figura 1C) fueron constantes para todas las variables a todos los tiempos, salvo un ligero descenso en la variable enzima, que permaneció constante hasta las 24 horas. En este caso las diferencias tampoco fueron significativas estadísticamente puesto que la dispersión de los datos fue de gran amplitud.

En cuanto a la masticabilidad (figura 1D), se apreció un comportamiento muy similar a la dureza, puesto que fue la variable cuyo resultado fue significativamente más alterado por la enzima ya que este parámetro se obtiene del producto entre la dureza, cohesividad y elasticidad.

Si bien las diferencias texturales entre las muestras tratadas enzimáticamente y las control o inyectadas con agua fueron no significativas dada la heterogeneidad de la carne, estas pueden justificarse por las rupturas de las proteínas y tejido conectivo debido a la acción de la papaína sobre los enlaces peptídicos de la estructura de la carne (Ashie, I., Sorensen, T., & Nielsen, P. 2002), siendo estas más rápidas que las generadas por las enzimas endógenas de la carne (calpaínas y catepsinas) (Chéret et al. 2007) en las muestras control. Este colapso estructural afecta directamente a las propiedades texturales de la carne.

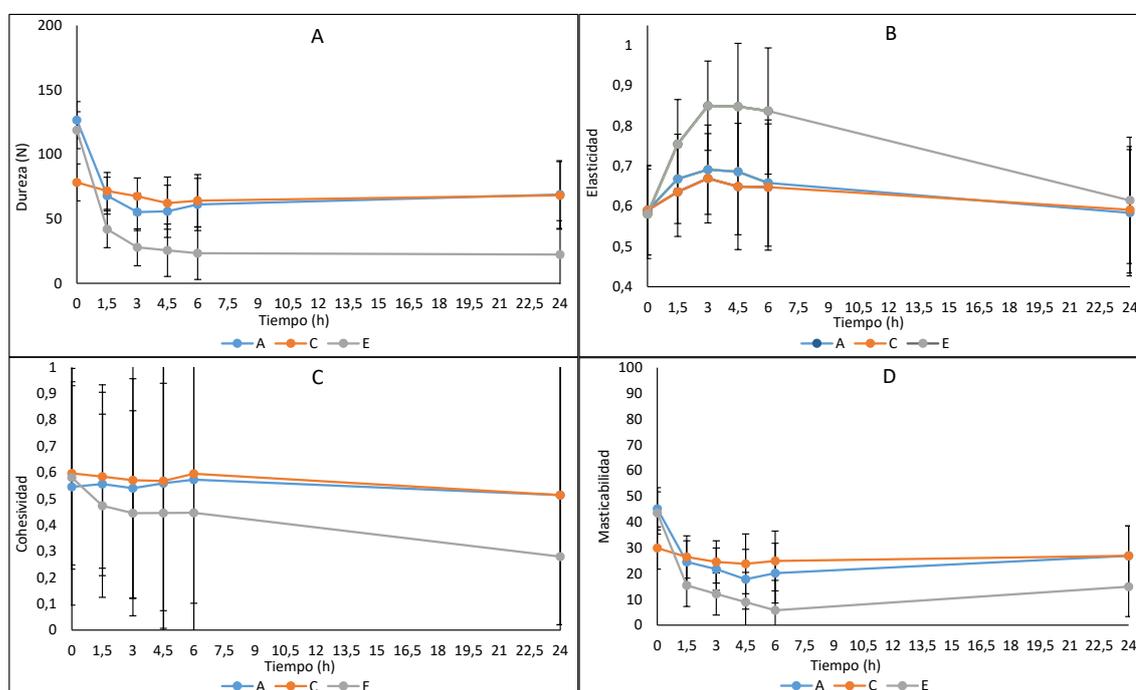


FIGURA 1. Evolución de las variables Fuerza (Newtons) (A), Elasticidad (B), Cohesividad (C) y Masticabilidad (D), con respecto al Tiempo en horas (h), para las muestras Control (C), Agua (A) y Enzima (E).

4.2. Efecto de la humedad

Cuando se evaluó el contenido en agua de las muestras del estudio de pre-tratamiento con enzima (Figura 2) se evidenció como las muestras inyectadas tanto con agua como con

enzima tenían un mayor porcentaje de humedad, siendo la tendencia de pérdida de agua con el incremento de tiempo de tratamiento pre-cocción similar en todos los casos.

Aunque como hemos mencionado no existieron diferencias estadísticas en el contenido en agua de las muestras, las tratadas con el enzima presentaron ligeramente una mayor cantidad de esta lo cual podría deberse a la formación de geles los cuales pueden tener la capacidad de retención de agua (Jochen Weiss et al. 2010).

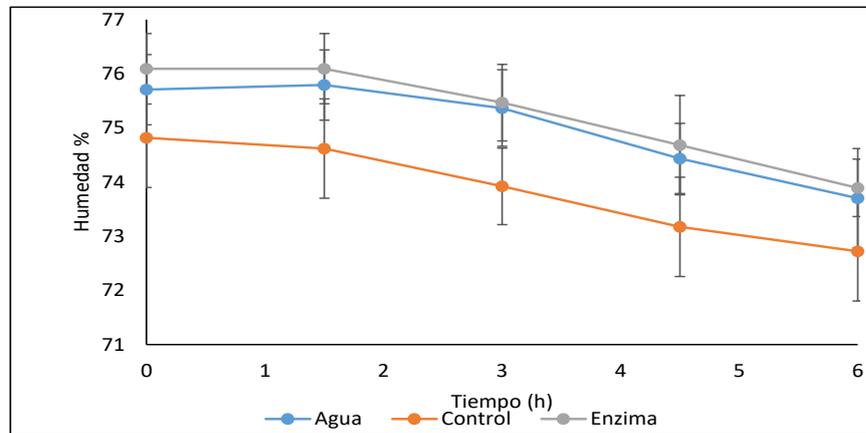


FIGURA 2 Variación Humedad (%) con respecto al tiempo (horas) para Agua (A), Control (C) y Enzima (E)

4.3. Tratamiento térmico. Determinación del tiempo de cocción.

Tal y cómo se describe en el diseño experimental (punto 3.3), para el desarrollo del estudio del efecto de la cocción en la textura de carne pre-tratada con papaína, fue necesario un estudio de transmisión de calor previo a fin de definir el tiempo mínimo de cocción que permita alcanzar en el punto más desfavorable de la muestra una temperatura de 90°C, temperatura a la que el enzima se inhibe.

Para visualizar la evolución de la temperatura en el interior de las muestras tratadas enzimáticamente, se elaboró una curva de temperaturas (Figura 3). Se observó que para alcanzar la temperatura deseada para la inactivación de la actividad proteolítica (90°C) fueron necesarios 10 minutos, si bien para asegurar la máxima inactivación de enzima posible, dada la heterogeneidad de las muestras, se decidió prolongar 2 minutos la cocción de estas, estableciendo por tanto un tratamiento térmico total de 12 minutos de duración.

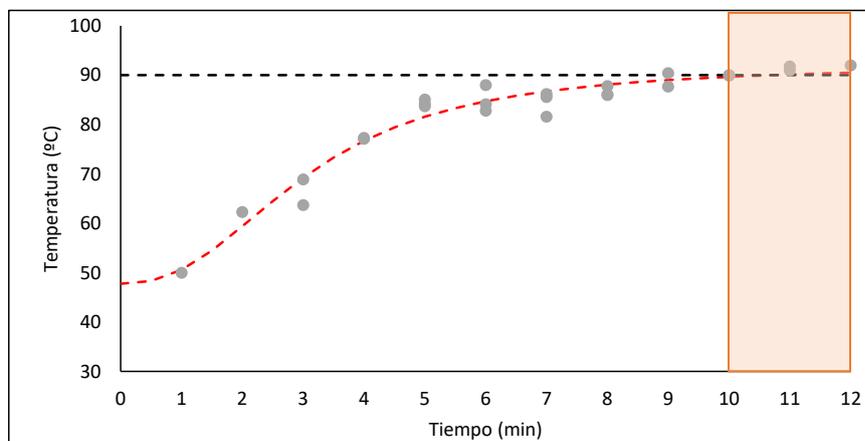


FIGURA 3 Curva de valores de Temperatura (C°) frente al Tiempo (min) de duración del tratamiento térmico.

4.4. Efecto de la cocción en la textura de carne pre-tratada con papaína.

Tras realizar los ensayos de TPA de las muestras tratadas térmicamente durante 12 minutos, se dispuso al procesamiento de los datos obtenidos. Las propiedades estudiadas fueron las mismas que para el estudio del pre-tratamiento (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad) y se muestran en la Figura 4. Como se explicó en el diseño experimental (punto 3.3), el estudio se realizó para los tiempos 0, 1,5 y 3 horas, ya que a partir de estos tiempos, como se muestra en la figura 1, no hubo diferencias significativas.

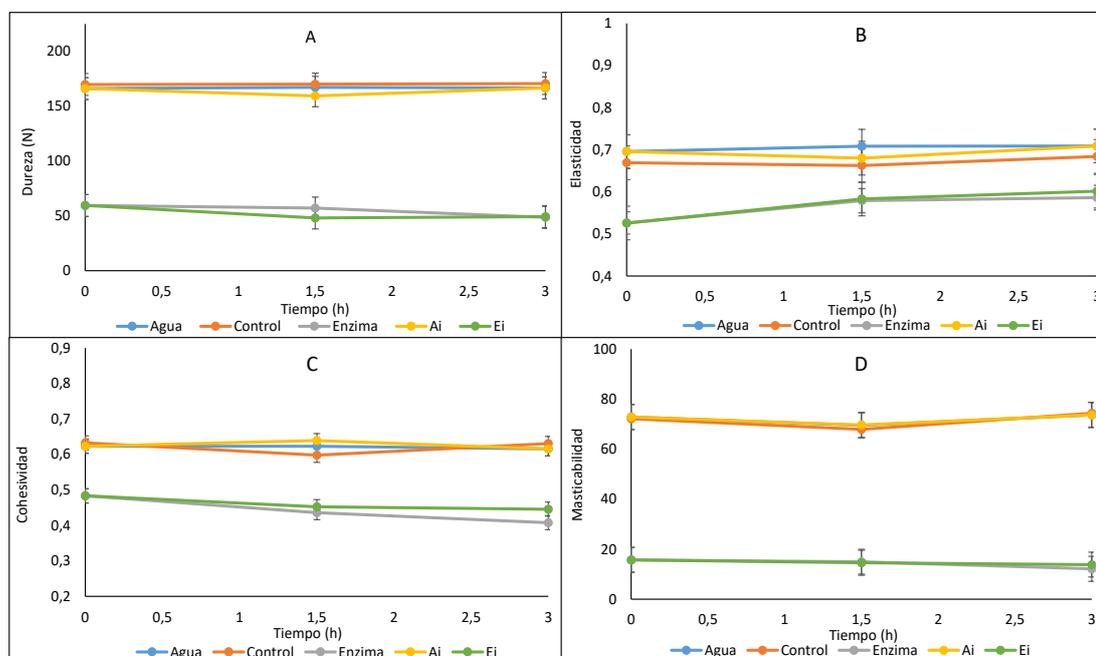


FIGURA 4. Evolución de las variables Fuerza (Newtons) A, Elasticidad B, Cohesividad C y Masticabilidad D con respecto al Tiempo (horas), para las muestras Control (C), Agua (A), Enzima (E), Agua Inmersión (Ai) y Enzima Inmersión (Ei).

Al observar los datos procedentes del estudio de TPA para muestras con tratamiento térmico, se pudo apreciar con claridad cómo se magnificaron las diferencias entre las muestras tratadas con el enzima y las no tratadas, tanto en la dureza como en la elasticidad y la masticabilidad. Estas diferencias fueron ya evidentes para el tiempo de tratamiento enzimático igual a 0, es decir recién aplicada el enzima. Este fenómeno tan acelerado de la actividad enzimática, la cual durante los 12 minutos de cocción generó más cambio que el que se producía durante 24 horas a temperatura de refrigeración (Figura 1), pudo ser debido a que la actividad proteolítica de la papaína es óptima a temperaturas de entre 70 y 80 °C (Shilpa S Khaparde, Rekha S Singhal. 2001). Así, a estas temperaturas las roturas de las microfibras de la carne fueron de mayor magnitud, afectando directamente a su estructura y de tal manera a sus propias características (Ashie, I., Sorensen, T., & Nielsen, P. 2002).

Además se observó como la variable tiempo de actividad enzimática antes de cocción no fue significativa, ya que los cambios fueron muy ligeros y no sobrepasaron el límite de significancia estadístico, por tanto, se deduce que los cambios se dan durante el tratamiento térmico de 12 minutos son mucho mayores que los que el enzima puede generar en el tiempo de acción pre-cocción y la interacción de ambos.

También destacar que no hubo un mayor efecto de la actividad enzimática para las muestras inyectadas y sumergidas, cuyos resultados fueron similares a los de las muestras solamente inyectadas, por lo que se deduce que, una mayor presencia de enzima sobre la

superficie de las muestras no amplifica de forma significativa las diferencias para la textura, más aun cuando la actividad durante la cocción es tan elevada.

Cabe destacar que si bien la diferencia entre la dureza (N) promedio de las muestras con enzima frente a las control fue de 115 N cuando se aplicó el tratamiento térmico de cocción, esta fue solo de 42 N cuando este no se aplicó (Figura 1A), lo que supone que el efecto de la enzima se triplica prácticamente con el tratamiento térmico.

En el caso de la Elasticidad (Figura 4B), esta tuvo un comportamiento distinto con el tratamiento de cocción al observado en las muestras pre-cocción. En este caso, la elasticidad fue inferior en las muestras tratadas con enzima. Esto puede deberse a que estas muestras recuperaban en peor medida su forma inicial con respecto a las no tratadas con papaína como consecuencia de la ruptura de la estructura proteica.

4.5. Correlación de Imagen y Textura

Tal cómo se mencionó en materiales y métodos, con la finalidad de incrementar la información de la textura de las muestras como consecuencia del tratamiento térmico y de su pre-tratamiento o no con enzima, se procedió a analizar los cambios que el ensayo de textura generaba sobre estas (Figura 5). Para ello, una vez obtenidos los datos de imagen del área (píxeles) de las muestras antes y después del ensayo de textura, estos se transformaron a incremento de área en porcentaje, para después compararse con los datos correspondientes para la dureza (Figura 6).

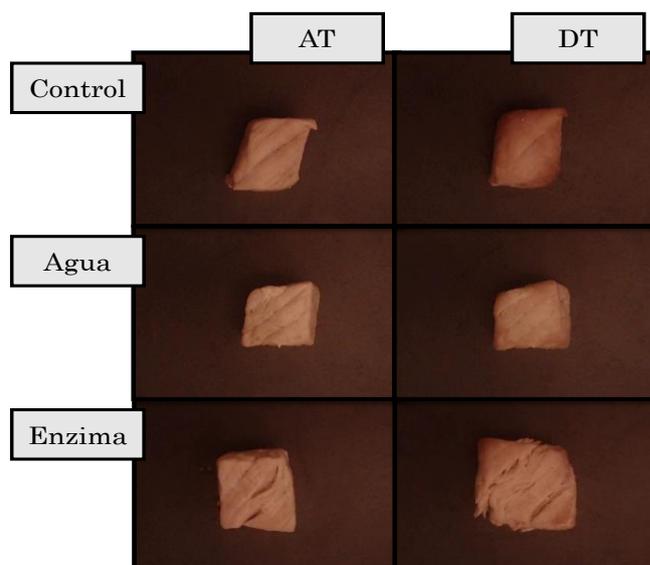


FIGURA 5 Imágenes a la hora de estudio de las muestras Control, Agua y Enzima, tomadas antes (AT) y después del TPA (DT).

En la figura 6A se muestra la evolución del incremento de área por acción del ensayo de textura. Como se parecía, se formaron dos grupos. Por un lado las muestras tratadas enzimáticamente y por otro las no tratadas. Las muestras tratadas fueron las que presentaron una mayor variación del área lo que reflejaría la desestructuración proteica de la carne a consecuencia de la acción enzimática. En cambio, en las muestras sin tratamiento esta deformación fue mínima dado el empaque de las fibras musculares como consecuencia de la menor degradación proteica.

Independientemente del tratamiento con enzima o no de las muestras, el tiempo de acción enzimático no fue influyente, al igual que tampoco lo había sido para la dureza (figura 4A). Es por eso que cuando se relacionaron los datos del incremento del área con la dureza (figura 6B) se tomaron los valores promedios correspondientes a los tres tiempos (0, 1,5 y 3 horas) para ambos.

En el caso de las muestras Control, Agua y Agua con inmersión, no hubo diferencias significativas de dureza (valor promedio 165N), y en cuanto a la variación de Área en la comparativa de áreas antes y después de análisis de TPA hubo ligeras diferencias no significativas entre ellas, con valores comprendidos entre el 9'2% para las control y 7'4% tanto para las de agua como las de agua con inmersión. Las muestras que habían recibido tratamiento enzimático previo si obtuvieron diferencias significativas tanto en imagen como en textura, ya que obtuvieron valores de entre el 27 y el 28% para el incremento del área. Se podría afirmar por tanto, que una mayor diferencia de área se corresponde con una mayor pérdida de dureza.

Esta parte del estudio, mediante el uso de imagen, reflejó de forma visual los cambios estructurales producidos por la actividad proteolítica del enzima (Figura 5) sobre las muestras de carne, y también demuestra cómo estos cambios, se pudieron registrar en forma de datos numéricos.

El resultado manifestaría que es posible el recabado de información relacionada con las propiedades texturales de la carne, como en este caso la dureza, a partir de una toma de imagen y el posterior análisis de las diferencias visuales, como el área en píxeles, ya que se puede apreciar una relación entre ambas.

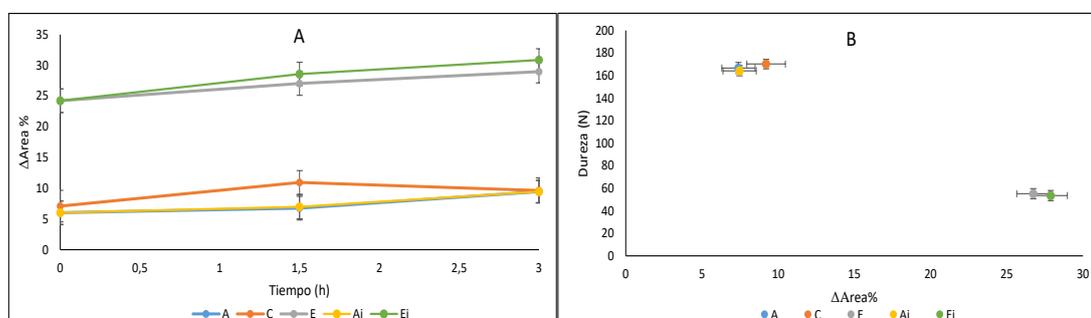


FIGURA 6 Representación del Incremento de Área de imagen porcentual (Δ Area%) frente a Tiempo (h) (A) y representación Dureza (N) frente Incremento de Área de imagen porcentual (Δ Area%) (B), para las variables: Agua (A), Control (C), Enzima (E), Agua con inmersión (Ai) y Enzima con inmersión (Ei).

4.6. Análisis sensorial

Para el desarrollo y diseño del presente análisis se tuvieron en cuenta los resultados obtenidos anteriormente durante el resto de fases del estudio. A partir de los resultados anteriores y con la finalidad de reducir el número de muestras a evaluar por los catadores, se desestimaron las variables que no mostraron influencia significativa (tiempo de acción enzimática e inmersión), y de este modo se seleccionaron las muestras de control y tratadas con el enzima.

La prueba triangular mostró como la mayoría de los jueces del panel fueron capaces de distinguir las muestras tratadas con papaína (71% fue capaz, frente al 29% que no lo fue) (Figura 7A), lo cual puede traducirse en que según la norma UNE-EN ISO 4120 (2008), para

24 pruebas realizadas, más de 16 aciertos supone que existen diferencias significativas con un $\alpha < 0.001$. En el caso de la escala de intensidad, los datos expresados en escala porcentual, como se refleja en la Figura 7B, mostraron que los jueces tuvieron la capacidad de diferenciar la textura, valoraron la ternura en un 43.91% para las muestras tratadas, con respecto a un 5.45% para las que no lo fueron. También se observó (Figura 7C) que la totalidad de los jueces percibieron las muestras no tratadas en el intervalo de ternura del 0-19%, mientras que para las tratadas esta percepción estuvo más repartida entre todos los intervalos, lo que puede deberse a que, al tratarse jueces no entrenados, exista más dispersión por la mayor dificultad de evaluación.

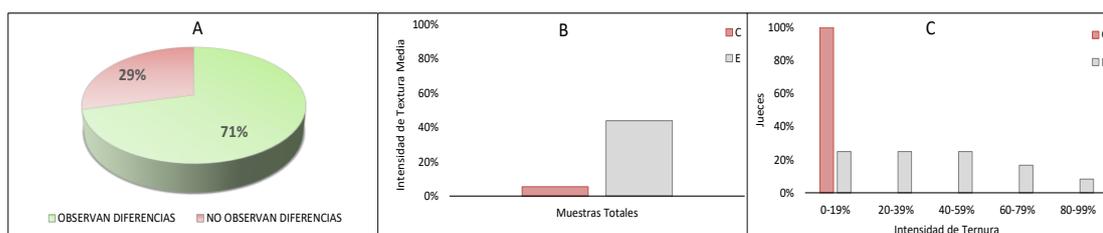


FIGURA 7 Representación de los resultados de la prueba triangular (A), de la Intensidad de la textura media percibida por los jueces (B) e Intervalo de intensidad elegido por juez (C), para las variables; sin tratamiento enzimático (C) y con tratamiento enzimático (E).

5. CONCLUSIONES

La realización del estudio ha aproximado el objetivo de desarrollo y mejora de productos alimenticios cárnicos de textura modificada en la manera de cómo se aplica el enzima y el efecto que la cocción genera en la textura de estas carnes pre-tratadas.

Así los estudios de pre-tratamiento con el enzima han reflejado que si bien esta genera cambios en la ternura de la carne estos son mínimos al compararse con los que se dan cuando se aplica un proceso de cocción a muestras pre-tratadas.

Además, el estudio también refleja como la gran incidencia que tiene el proceso de cocción, al acelerar la actividad enzimática, elimina el posible efecto que pudiera tener la inmersión de las muestras inyectadas con enzima, en una solución de enzimas.

El incremento de la temperatura durante la cocción se ha mostrado como la variable más influyente en el proceso de ternura de la carne, por lo que nuevos estudios en esa dirección serían interesantes.

Finalmente, los cambios que el enzima ha generado en las muestras son los suficientemente importantes como para que los catadores hayan podido discriminar y cuantificar dicha actividad de una forma clara, lo que deja abierto el camino para profundizar en el estudio a fin de conseguir alimentos cárnicos con texturas modificadas.

6. BIBLIOGRAFÍA

AASLYNG, Margit D., et al. The impact of sensory quality of pork on consumer preference. *Meat Science*, 2007, vol. 76, no 1, p. 61-73. AOAC (2019). *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*, 21st Edition

ASHIE, I., SORENSEN, T. AND NIELSEN, P. (2002), Effects of Papain and a Microbial Enzyme on Meat Proteins and Beef Tenderness. *Journal of Food Science*, 67: 2138-2142.

BHAT, Z.F., MORTON, J.D., MASON, S.L. AND BEKHIT, A.E.-D.A. (2018), Applied and Emerging Methods for Meat Tenderization: A Comparative Perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17: 841-859. doi:10.1111/1541-4337.12356

BOUTON, P.E., HARRIS, P.V., SHORTHOSE, W.R. (1975), changes in shear parameters of meat associated with structural changes produced by aging, cooking and myofibrillar contraction. *Journal of Food Science*, 40: 1122-1126.

BRANDT M.A., SKINNER E.Z., COLEMAN J.A., Texture profile method, *Journal of Food Science*, 29 (1963), pp. 404-409.

CHENG, CHIN-SHENG; PARRISH JR, F. C. Heat-induced changes in, myofibrillar proteins of bovine longissimus muscle. *Journal of Food Science*, 1979, vol. 44, no 1, p. 22-24.

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

CURRIE R.W., WOLFE F.H., Rigor related changes in mechanical properties (tensile and adhesive) and extracellular space in beef muscle, *Meat Science*, Volume 4, Issue 2, 1980, Pages 123-143, ISSN 0309-1740.

DE HUIDOBRO, F. Ruiz, et al. A comparison between two methods (Warner–Bratzler and texture profile analysis) for testing either raw meat or cooked meat. *Meat science*, 2005, vol. 69, no 3, p. 527-536.

DINH, NHAT THU TRAN. Meat quality: understanding of meat tenderness and influence of fat content on meat flavor. *Tạp chí Phát triển Khoa học và Công nghệ*, 2008, vol. 9, no 12.

FERNÁNDEZ-LUCAS, Jesús; CASTAÑEDA, Daniel; HORMIGO, Daniel. New trends for a classical enzyme: Papain, a biotechnological success story in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, vol. 68, p. 91-101.

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.

GARDNER, G.E., WILLIAMS, A., SIDDELL, J., BALL, A.J., MORTIMER, S., JACOB, R.H., PEARCE, K.L., HOCKING EDWARDS, J.E., ROWE, J.B., PETHICK, D.W.; Using Australian Sheep Breeding Values to increase lean meat yield percentage (2010) *Animal Production Science*, 50 (11-12), pp. 1098-1106.

GERELT, B.; IKEUCHI, Y.; SUZUKI, A. Meat tenderization by proteolytic enzymes after osmotic dehydration. *Meat science*, 2000, vol. 56, no 3, p. 311-318. BAILEY, A. J., & LIGHT, N. D. *Connective tissue in meat and meat products*. London: Elsevier Applied Science. (1989).

HEARNE, LEANNE E.; PENFIELD, MAFUORIE P.; GOERTZ, GRAYCE E. Heating effects on bovine semitendinosus: shear, muscle fiber measurements, and cooking losses. *Journal of Food Science*, 1978, vol. 43, no 1, p. 10-12.

JOCHEN WEISS, MONIKA GIBIS, VALERIE SCHUH, HANNA SALMINEN, *Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products*, *Meat Science*, Volume 86, Issue 1, 2010, Pages 196-213, ISSN 0309-1740,

JONES, S.B., CARROLL, R.J., CAVANAUGH, J.R. (1976), muscle samples for scanning electron microscopy: preparative techniques and general morphology. *Journal of food science*, 41: 867-873.

KARAMICHOU, E., RICHARDSON, R., NUTE, G., WOOD, J., & BISHOP, S. (2007). Genetic analyses of sensory characteristics and relationships with fatty acid composition in the meat from Scottish Blackface lambs. 1524-1531.

KATSAROS, G.I., KATAPODIS, P., TAOUKIS, P.S. High hydrostatic pressure inactivation kinetics of the plant proteases ficin and papain, *Journal of Food Engineering*, Volume 91, Issue 1, 2009, Pages 42-48, ISSN 0260-8774,

KHAPARDE, S. S, SINGHAL, R. S, Chemically modified papain for applications in detergent formulations, *Bioresource Technology*, Volume 78, Issue 1, 2001, Pages 1-4, ISSN 0960-8524.

KUMAR, VINOD & SANGWAN, PUNESH & SINGH, DHARMENDRA & KAUR GILL, PRABHJOT. (2014). Global scenario of industrial enzyme market. 10.13140/2.1.3599.0083. Light et al., 1985;

LAAKKONEN, Eini. Factors affecting tenderness during heating of meat. En *Advances in food research*. Academic Press, 1973. p. 257-323.

LIU, A., NISHIMURA, T., & TAKAHASHI, K. (1996). Relationship between structural properties of intramuscular connective tissue and toughness of various chicken skeletal muscles. *Meat Science*, 43(1), 43-49.

LOCKER D, MATEAR D, STEPHENS M, JOKOVIC A. Oral health-related quality of life of a population of medically compromised elderly people. *Community Dent Health*. 2002;19 (2):90-97.

NIELSEN, S. S. (Ed.). (2010). *Food analysis* (pp. 139-141). New York: Springer. Nowjack-Raymer y Sheiham, 2003

PETHICK, D. W., BANKS, R. G., HALES, J., & ROSS, I. R. (2006). Australian prime lamb—a vision for 2020. *International Journal of Sheep and Wool Science*, 54(1), 66-73.

REGLAMENTO (CE) N O 1331/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO, de 16 de diciembre de 2008 , por el que se establece un procedimiento de autorización común para los aditivos, las enzimas y los aromas alimentarios.

RUIZ-RAMÍREZ, J. ARNAU, X. SERRA, P. GOU, Relationship between water content, NaCl content, pH and texture parameters in dry-cured muscles, *Meat Science*, Volume 70, Issue 4, 2005, Pages 579-587, ISSN 0309-1740,

SILVA T.J.P., ORCUTT M.W., FORREST J.C., BRACKER C.E., JUDGE M.D, Effect of heating rate on shortening, ultrastructure, and fracture behavior of prerigor beef muscle, *Meat Science*, Volume 33, Issue 1, 1993, Pages 1-24, ISSN 0309-1740.

SZCZESNIAK, A.S. (1963), Classification of Textural Characteristics. *Journal of Food Science*, 28: 385-389. doi:10.1111/j.1365-2621.1963.tb00215.x

TORNBERG, E. V. A. Effects of heat on meat proteins—Implications on structure and quality of meat products. *Meat science*, 2005, vol. 70, no 3, p. 493-508.

UNE 87025:1996, Análisis sensorial. Metodología. Perfil de textura.

UNE-EN ISO 4120 (2008), Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular (ISO 4120:2004)

UNE-ISO 4121 (2006), Análisis sensorial. Directrices para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas. (ISO 4121:2003)

UNE-ISO 8587:2010, Análisis sensorial. Metodología. Ordenación.

VERBEKE, WVOMJWNVJBCV, et al. Consumer perception, facts and possibilities to improve acceptability of health and sensory characteristics of pork. *Meat science*, 1999, vol. 53, no 2, p. 77-99.