

Tesis de Posgrado

Estudio sobre la reducción de la actividad acuosa en carne vacuna durante su inmersión en soluciones de cloruro de sodio y glicerina

Favetto, Guillermo Julio

1981

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Favetto, Guillermo Julio. (1981). Estudio sobre la reducción de la actividad acuosa en carne vacuna durante su inmersión en soluciones de cloruro de sodio y glicerina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1736_Favetto.pdf

Cita tipo Chicago:

Favetto, Guillermo Julio. "Estudio sobre la reducción de la actividad acuosa en carne vacuna durante su inmersión en soluciones de cloruro de sodio y glicerina". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1981.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1736_Favetto.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE INDUSTRIAS

ESTUDIO SOBRE LA REDUCCION DE LA ACTIVIDAD ACUOSA EN CARNE VACUNA DURANTE
SU INMERSION EN SOLUCIONES DE CLORURO DE SODIO Y GLICERINA

Tesis presentada por

GUILLERMO JULIO FAVETTO

para optar al título de Doctor en Cs. Químicas
Orientación Química Industrial

Director de tesis: Dr. Jorge Chirife

A mi esposa

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Chirife por su constante estímulo, dedicación y entusiasmo en la realización de este trabajo.

Al Dr. Gualterio Bartholomai por su apoyo durante el desarrollo experimental del trabajo.

A la Universidad de Buenos Aires, por permitir la realización del trabajo y a la Subsecretaría de Estado de Ciencia y Tecnología (PROGRAMA NACIONAL DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS) por la financiación parcial del mismo.

INDICE

	Página
I - INTRODUCCION GENERAL	6
II - OBJETO DEL TRABAJO	27
III - PARTE EXPERIMENTAL	
III.a - Equipo	29
III.b - Material utilizado	32
III.c - Solución de baja a_w (cloruro de sodio y glicerina)	32
III.d - Preparación del material	35
III.e - Procedimiento experimental	37
III.f - Determinación de ClNa	38
III.g - Determinación de glicerina	39
III.h - Determinación de humedad	42
III.i - Determinación de a_w	45
III.j - Repetitividad de las determinaciones de cloruro de sodio y glicerina	48
IV - RESULTADOS Y DISCUSION	
IV.a - Determinación de humedad	50
IV.b - Estudios de equilibrio	57
IV.c - Análisis difusional de la entrada neta de solutos	65
IV.d - Transporte de masa en términos de "molalidad" en la carne	79
IV.e - Efecto del espesor	84
IV.f - Efecto de los pre-tratamientos	

IV.f.1 - Efecto de la velocidad de congelado previo a la deshidratación	87
IV.f.2 - Efecto de la dirección de flujo en el transporte de solutos	91
IV.f.3 - Cuantificación del efecto de los diversos pretratamientos en términos de "molalidad" en la carne	94
IV.f.4 - Efecto de la cocción	98
IV.g - Predicción de la actividad de agua	102
IV.h - Método integral	118
V - CONCLUSIONES GENERALES	124
VI - NOMENCLATURA	126
VII - REFERENCIAS	131
VIII - TABLA DE DATOS	147

I - INTRODUCCION GENERAL

El término alimentos de humedad intermedia se introdujo en nuestro vocabulario hace dos décadas y comprende un grupo de alimentos que, se asemejan a los alimentos deshidratados en cuanto a su resistencia al deterioro microbiológico, pero contienen mucha más humedad que los llamados deshidratados. Los alimentos de humedad intermedia son plásticos, fácilmente masticables, pueden ser comidos sin rehidratación previa, no producen la sensación bucal de secado y además son estables sin refrigeración o proceso térmico. (Potter 1970, Kaplow 1970, Brockman 1970, Labuza et al. 1970).

Estos alimentos son considerados, por muchos, como el más reciente avance en el sistema de producción de alimentos y su tecnología ha sido tratada en numerosos artículos técnicos y libros (Davies, et al. 1976).

Es importante sin embargo reconocer que la manufactura de productos estables, por la incorporación de solutos, ha sido practicada por años y es un método de preservación para muchos alimentos bien conocidos (salado de pescados, como anchoita, merluza, corvina, róbalo y abadejo (Zugarramurdi and Lupín, 1976, 1977 y 1980; Del Valle and Nickerson, 1967a, b); la deshidratación de frutas en almíbares como manzana, banana, ananá, mango, damasco, etc. (Lerici et al., 1977, García et al., 1974, Farkas and Lazar, 1969, Ponting et al., 1966, Bongirwar and Sreenivasan, 1977, Gonzalez et al., 1973, Hope and Vitale, 1973)).

La idea en la actualidad es tratar de comprender los principios físico-químicos y biológicos que gobiernan el mecanismo de actividad de agua

y el desarrollo de nuevos métodos de producción aplicando estos principios.

La tecnología de alimentos de humedad intermedia ofrece algunas ventajas en comparación con los métodos de procesamiento existentes. Estas son generalmente en las áreas de calidad (que incluye pérdida de nutrientes y caracteres organolépticos), conveniencia y economía (utilización de nuevos materiales, el uso de energía y la seguridad microbiológica que puede ser asumida para todos los productos). Las ventajas de conveniencia son relativas al congelado y a la deshidratación, las de energía son relativas a todos los procesos y las de calidad son relativas al proceso térmico y a algunos métodos de deshidratación (Flink, 1978).

Además, por tener humedad relativamente baja pueden ser considerados concentrados desde el punto de vista de el peso, volumen y contenido calórico. Ya que son plásticos, pueden ser moldeados en bloque de geometría uniforme, para facilitar el envasado y almacenamiento.

En contraste con los alimentos liofilizados y deshidratados, su textura en general es mucho más cercana a la del alimento fresco que a la estructura rígida y quebradiza de éstos últimos y se pueden consumir directamente, sin esfuerzo previo.

El renacimiento tecnológico en la producción de alimentos de humedad intermedia, fue el desarrollo de un alimento blando y húmedo para perros. Este estaba basado en una combinación de subproductos cárneos con soja y azúcar (glucosa y sacarosa), para dar un producto con un 25% de agua y una actividad de agua (a_w) de 0,63. Además se agregaba propilenglicol (2%) y sorbato de potasio (0,3%) para proporcionar una actividad antimicrobica; el glicol

también cumplía una función de plastizante. Igualmente se agregaban emulsificantes, sal y suplementos nutritivos (Kaplow, 1970).

Los microorganismos requieren una abundante cantidad de agua para su crecimiento, privar a éstos de la suficiente cantidad de agua, es un método efectivo para evitar su crecimiento (Scott 1957, Van Mosel and Kujik 1955, Troller and Christian 1978, Christian 1963, Troller 1960, Insalata 1972, Labuza et al. 1972, Troller 1972, Bizot and Tome 1977, Haas et al. 1975).

Un método para determinar la cantidad de agua disponible para el crecimiento microbiano, es medir la actividad de agua de la sustancia. La actividad de agua, es definida como la relación entre la fugacidad del agua en una solución respecto de la fugacidad del agua pura. La fugacidad puede ser aproximada a la presión parcial de vapor, bajo las condiciones usuales de temperatura y presión que prevalecen en un alimento,

$$a_w = p_w / p_w^0$$

donde p_w = presión de vapor del agua en el alimento (o sistema) y p_w^0 = presión de vapor del agua pura, ambas medidas a la misma temperatura. La ecuación anterior, indica que la actividad de agua, puede ser vista como la humedad relativa de equilibrio del espacio cerrado encima del alimento. Como la ley de Raoult para soluciones ideales, indica que la presión parcial de cualquier componente, es igual al producto de la presión de vapor de ese componente puro, multiplicada por su fracción molar en la solución:

$$P_i = X_i P_i^0$$

donde el suscripto se refiere al componente iésimo. Así, la combinación de las dos ecuaciones anteriores da como resultado:

$$a_w = X_w = \frac{\text{moles de agua}}{\text{moles de agua} + \text{moles de soluto}}$$

Esta última afirmación, es el resultado de aplicar la ley de Raoult a soluciones ideales, por lo tanto, valores exactos de actividad de agua, pueden ser esperados para soluciones diluidas, en las cuales las desviaciones de la idealidad son mínimas (Ross 1975). Para soluciones mas concentradas es necesario introducir el concepto de coeficiente de actividad,

$$a_w = \gamma X_{H_2O}$$

donde γ es el coeficiente de actividad que depende de la concentración.

A pesar de su estabilidad microbiológica, los alimentos de humedad intermedia, están sujetos a los mismos tipos de cambios químicos adversos, que se observan en la totalidad de los alimentos deshidratados.

El efecto del agua sobre las reacciones químicas en los alimentos es más complicada que el efecto de la misma sobre el crecimiento microbiano. La actividad de agua no es el parámetro más adecuado para limitar la actividad química y el agua puede cumplir más de una función (solvente de reactivos y productos, reactivo en hidrólisis, producto de reacción en condensaciones

que ocurren en el pardeamiento no-enzimático, actividad inhibitoria o catalítica, etc.).

En reacciones catalizadas por enzimas, en alimentos de humedad intermedia el agua es importante como solvente del sustrato, que difunde hasta alcanzar los sitios activos de las enzimas (Acker 1970, Blain et al. 1962, Drapon 1972, Coleman and Whitaker 1974, Potthast et al. 1975, Reed 1966, Chirgadze and Qusepyan 1972, Skujins and Mc Laren 1967).

Prácticamente todos los alimentos de humedad intermedia están sujetos al pardeamiento no-enzimático. Aquí el agua cumple dos roles, como solvente y como producto de la reacción. A bajas a_w el factor limitante es la difícil movilidad, entonces un agregado de agua acelera la reacción. A altos contenidos de agua, la dilución de los reactivos y la inhibición por producto que proviene de la condensación, retardan fuertemente la reacción (Eichner and Karel 1972, Labuza et al. 1970, Karel and Labuza 1968, Labuza et al. 1977, Lea 1951, Burvall et al. 1978, Labuza and Saltmarch 1980, Eichner and Ciner-Doruk 1980).

El agua actuando como solvente afecta la oxidación de lípidos y otras reacciones de radicales libres. La velocidad de oxidación alcanza un mínimo cuando comienza el rango de humedad intermedia debido al efecto protector del agua (forma puentes de hidrógeno sobre los hidroperóxidos evitando su descomposición, hidratando trazas de metales inhibiendo la actividad catalítica, reacciona con los metales dando hidróxidos insolubles). Al aumentar la a_w aumenta la velocidad de oxidación pues la matriz porosa se hincha y permite una más rápida entrada del oxígeno atmosférico y una mayor difusión de las trazas

metálicas no inactivadas (Loncin et al. 1968, Labuza et al. 1972, Heidelbaugh and Karel 1970, Schults et al. 1962, Maloney et al. 1966, Karel 1973, Lundberg 1961, Martin 1958, Chou Breen 1972, Gustafson and Cooke 1952).

En 1970 Labuza et al. publicaron un "mapa de a_w " similar al de la figura 1. En éste, se representa la relación entre la a_w y la resultante integrada, basada en la estabilidad relativa de las principales reacciones químicas independientes y/o interdependientes ya citadas.

Esta figura demuestra que hay solo una zona de actividad de agua en la cual, las velocidades de todas las reacciones simultáneamente son mínimas y es aproximadamente entre 0,25 y 0,35, la cual, está muy por debajo del nivel general aceptado para alimentos de humedad intermedia; cuya humedad, oscila entre 20 y 50% en peso y su a_w entre 0,60 y 0,85. Las velocidades de las reacciones químicas son incrementadas rápidamente en este rango, ya por debajo del valor máximo de éste, comienzan a crecer microorganismos (Flink 1978).

Como una generalidad, los alimentos de humedad intermedia son más susceptibles a la reacción de Maillard que los alimentos deshidratados, pero menos susceptibles a la oxidación de lípidos y a menos que se tomen las precauciones necesarias para inactivar las enzimas están expuestos a una variedad de reacciones enzimáticas.

El principal problema en alimentos de humedad intermedia, es prevenir el crecimiento de bacterias y minimizar el crecimiento potencial de otros microorganismos que deterioren el alimento. Es aquí donde la actividad de agua constituye un factor importante, pues las bacterias y los demás

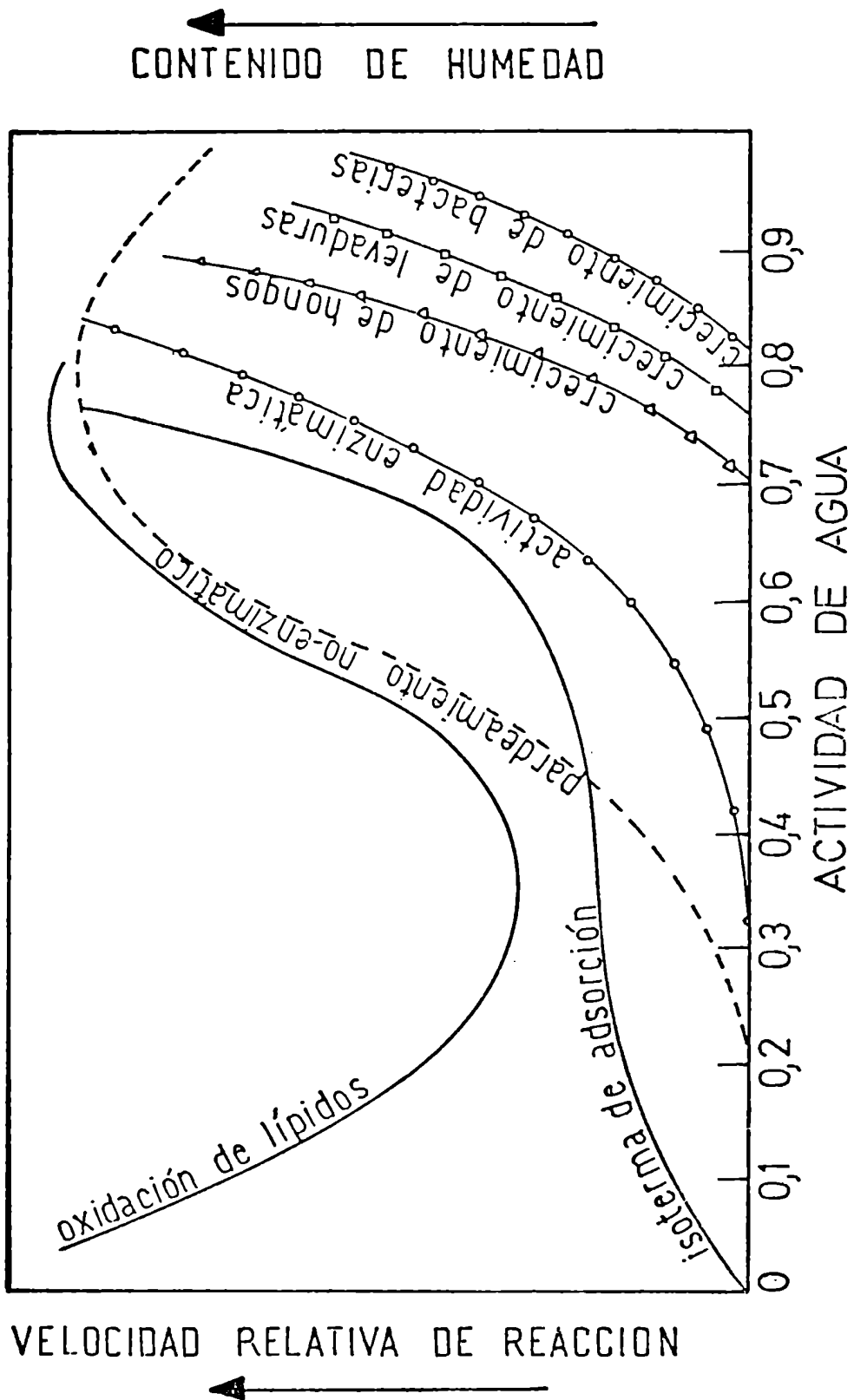


FIGURA 1 : "Mapa de actividad de agua" (Labuza et al. 1970)

microorganismos no pueden crecer, si la actividad de agua es menor de un cierto valor.

La mayor parte de microorganismos que aparecen en carnes, proliferan a elevados valores de a_w , y sólo unos pocos requieren una reducida a_w para crecer. Generalmente, de los microorganismos asociados con carnes, los hongos son mas tolerantes a una reducción de a_w que las levaduras y éstas más tolerantes que las bacterias. En la tabla 1 se dan los valores mínimos de a_w requeridos para el crecimiento de un número de géneros de bacterias, levaduras y hongos; los cuales, son comúnmente encontrados en carnes y productos cárneos. Esta tabla ha sido compilada por Leistner y Rödel 1975 de datos reportados en mas de treinta publicaciones, en la mayoría de las cuales, la tolerancia de a_w era estudiada bajo las demás condiciones óptimas de crecimiento y usando sustratos artificiales. Esta tolerancia a la actividad de agua, disminuirá si los otros factores como el pH, el potencial redox, la temperatura, no son los óptimos como ocurre frecuentemente en alimentos reales.

Ocurren algunas adaptaciones a bajas actividades de agua y parecen ser particularmente verdaderas cuando la a_w es disminuída por el agregado de sustancias solubles en agua (principio de los alimentos de humedad intermedia) mas bien que por cristalización de agua (alimentos congelados) o remoción de agua (alimentos deshidratados).

Indudablemente, la bacteria tóxica que tolera menos actividad de agua, es el *Staphilococcus aureus* que bajo condiciones anaeróbicas, es inhibida a 0,91 (Scott 1953), pero bajo condiciones aeróbicas solo debajo de

Tabla 1: a_w mínimo para el crecimiento de microorganismos asociados con carnes y productos cárneos.

a_w	bacterias	levaduras	hongos
0,98	Clostridium (1), Pseudomonas [#]	-	-
0,97	Clostridium (2)	-	-
0,96	Flavobacterium, Klebsiella, Lactobacillus, [#] Proteus, [#] Pseudomonas, [#] Shigella	-	-
0,95	Alcaligenes, Bacillus, Citrobacter, Clostridium (3), Enterobacter, Escherichia, Proteus, Pseudomonas, Salmonella, Serratia, Vibrio	-	-
0,94	Lactobacillus, Microbacterium, Pediococcus, Streptococcus [#]	-	-
0,93	Lactobacillus, [#] Streptococcus, Vibrio [#]	-	Rhizopus, Mucor
0,92	-	Rhodotorula, Pichia	-
0,91	Corynebacterium, Staphylococcus (4), Streptococcus [#]	-	-
0,90	Micrococcus, Pediococcus	Saccharomyces, Hansenula	-
0,88	-	Candida, Torulopsis	Cladosporium
0,87	-	Debaryomyces	-

Tabla 1: (continuación)

a_w	bacterias	levaduras	hongos
0,86	Staphylococcus (5)	-	-
0,85	-	-	Penicillium
0,75	Halophilic bacteria	-	-
0,65	-	-	Aspergillus

= algunas clases, (1) Clostridium botulinum tipo C, (2) Clostridium botulinum tipo E y algunas clases de Clostridium perfringens, (3) Clostridium botulinum tipo A y B y Clostridium perfringens, (4) anaeróbico, (5) aeróbico.

0,86 (Scott 1953, Christian y Waltho 1962(b), 1964, Matz 1965).

El mecanismo por el cual microorganismos como el S.A. pueden sobrevivir y aún crecer a reducidas actividades de agua fue un tema de renovado interés en los últimos años. Cuando una célula es expuesta a un sistema de baja actividad de agua se cree que ésta acumula compuestos intracelulares osmóticamente activos, de manera de contrarrestar la diferencia de actividades que existen a través de la membrana celular (Measures and Gould, 1976, Gould and Measures, 1977, Troller and Christian, 1978). Estos compuestos incluyen iones como K^+ , Na^+ , Cl^- , Mg^{++} , aminoácidos como prolina, α -aminobutírico, ácido glutámico, aniones de ácidos orgánicos y fosfatos inorgánicos.

Christian and Ingran (1959) demostraron que el punto de congelación (y por lo tanto la a_w) de varias bacterias halófilas y no-halófilas era tan bajo o más bajo que el del medio de crecimiento. Estas observaciones eran apoyadas por el trabajo de Christian and Waltho (1962, a y b, 1964) quienes determinaron experimentalmente la concentración interna de solutos a varias bacterias creciendo en medios de baja a_w y encontraron un medio intracelular muy concentrado. Chirife et al. (1981) calcularon la actividad de agua intracelular teóricamente, en base a las concentraciones ya determinadas, utilizando la ecuación de Ross (1975). Compararon estos resultados con los obtenidos por determinación del punto de congelación con muy buena concordancia y corroboraron que los datos de a_w intracelular graficados versus a_w del medio dan ligeramente por debajo de la pendiente unitaria.

Los alimentos de humedad intermedia han sido divididos en cuatro categorías: históricos, tradicionales, semi-tradicionales y nuevos.

Históricos: Estos han sido conocidos y usados por años, incluyen aquéllos secados sin el agregado de humectantes (ciruelas, damascos, higos, pasas de uva y dátiles), preservados por adición de azúcar (frutas confitadas o garrapiñadas, pastel de gelatina, compotas, jaleas, miel, almíbares, y pasteles rellenos), aquéllos que han sido secados con el agregado de azúcar y/o sal (jamón de campo, pescados salados y ciertos embutidos) y productos de panadería (tortas de frutas y "brownies").

Tradicionales: Los que pertenecen a esta categoría son productos nuevos con extensiones de los llamados históricos. Por ejemplo: pasteles rellenos con fruta, "pop-tarts", destinados a ser calentados en tostadores. Estos básicamente usan dos productos históricos compota y productos de panadería, y así, mientras el producto es nuevo la tecnología sigue siendo la de los anteriores.

Semi-tradicionales: Productos de esta categoría son todavía algunos basados en productos históricos, pero su conexión es mucho más remota que en los tradicionales. Son básicamente productos de panadería con determinadas coberturas (azúcar batida con clara de huevo). Uno de los más recientes es la pasta de pizzas estables, que usan el concepto de semi-cocidos al horno, con el agregado de 2% de etanol para prevenir el crecimiento de hongos.

Nuevos: Estos son totalmente nuevos y no están asociados con los históricos. Es interesante notar que la mayoría de estos productos no están creados para el consumo humano sino para perros y gatos. Esto refleja que el nivel tecnológico de los alimentos de humedad intermedia, no es lo suficientemente sofisticado como para satisfacer el paladar humano, especialmente con respecto a su textura y gusto.

El extrudado de carne-soja, base del alimento para perros, no tiene la textura de la carne y está preservado con altos niveles de azúcar y/o propilenglicol, y ambos dan un gusto dulce que no es natural para muchos productos, especialmente carnes.

Las técnicas de producción de alimentos de humedad intermedia, pueden ser clasificadas de la siguiente manera:

- 1) Infusión húmeda ("Moist-infusion") en la cual, las piezas de alimento sólido son remojadas y/o cocidas en una solución apropiada, para dar como resultado final, un producto que tenga el nivel de actividad de agua deseado. Algunos de los alimentos producidos por este método incluyen: carne de vaca, cerdo, atún, zanahoria, macarrones y apio. (Brockman 1970, 1973). La solución usualmente contiene cloruro de sodio, glicerina, agua y sorbato de potasio.
- 2) Infusión seca ("Dry-infusion") en la cual, las piezas de alimento sólido, son primero deshidratadas y luego son impregnadas por remojo, en una solución que contiene los solutos (humectantes) deseados. Los alimentos hechos por este método incluyen cubos de pequeño tamaño listos para comer: carne de vaca, cerdo y pollo asados, carne estofada, carne salada y seca, ají con porotos, salchichas y jamón. Estos productos son preparados por liofilización de los ingredientes sólidos seguidos por un mezclado en un mezclador de baja velocidad y por una infusión. (Pavey and Schack, 1969).
- 3) Mezclado: en la cual los componentes son pesados, mezclados, cocidos y extrudados o de lo contrario combinados para dar como resultado final un producto de la actividad de agua deseada.

La técnica de "mezclado" (Bone 1968, 1969) da productos como: pollo

en forma de dados, manzanas en placas, huevos (Kaplow y Klose 1972), arroz (Cseri, Halik, y Kaplow 1972) y pastas (Halik 1972).

Varios pasos de procesamiento para optimización del producto son incluidos para diferenciar los procedimientos anteriores, entre ellos podemos incluir:

- a) Ajuste de a_w en el producto final, ya sea por deshidratación o por evaporación.
- b) Estabilización microbiológica por calentamiento ó uso de aditivos químicos.
- c) Inhibición del deterioro físico-químico por agregado de antioxidantes, agentes secuestrantes, emulsificadores o estabilizadores.
- d) Ajuste nutritivo por inclusión de nutrientes apropiados.

La energía requerida para estos procesos es ampliamente diferente siendo la infusión seca la de mayor requerimiento de energía por la necesidad de la deshidratación previa del alimento. La infusión húmeda requiere una cantidad media de energía entre la infusión seca y el mezclado, cuya magnitud depende de la temperatura del proceso y de los coeficientes de difusión de los solutos y del agua en el alimento. El mezclado por último es el que menos energía requiere, considerando su corto tiempo de extrusión-cocción.

En términos generales podemos considerar que la energía necesaria para la producción de alimentos de humedad intermedia será mucho menor que la necesaria para aquéllos preservados por métodos convencionales como la deshidratación, la esterilización y el congelado. Esta es una de las razones (bajo consumo de energía) del interés actual por la producción de alimentos de humedad intermedia para el consumo humano.

Diversos solutos también llamados humectantes, pueden ser incorporados a los alimentos de humedad intermedia, para disminuir la actividad acuosa al rango deseado (Bone 1969, Quinn 1967, Szulmayer 1969).

Estos solutos incluyen poliholes (propilenglicol, polietilenglicol 400, glicerina, 1,3 butilenglicol, sorbitol), azúcares (glucosa, sacarosa, fructosa, lactosa, dextrosa, maltosa) y sales (cloruro de sodio y de potasio) (Kaplow 1970, Bone 1973, Sloan and Labuza 1975).

La selección del humectante para la estabilización del alimento de humedad intermedia involucra los siguientes factores a ser considerados: la capacidad de disminuir la actividad de agua, impacto al sabor, textura, solubilidad, ionización, compatibilidad con otros factores del alimento, pH, límites fisiológicos, estabilidad, costo, seguridad, etc.

Esta lista podría ser extendida a cien o más factores limitados por la capacidad de definir técnicamente los factores físico-químicos que reúne un dado alimento.

Todos los aditivos citados tienen características no deseables en las concentraciones necesarias para controlar la a_w . La más atractiva posibilidad con los aditivos que disponemos, es la combinación de glicerina y cloruro de sodio. La glicerina tiene menor impacto al sabor que la glucosa o sacarosa (sabor dulce anormal en muchos productos) y para los propósitos prácticos es no volátil, bien tolerada fisiológicamente y es metabolizada produciendo 4,3 Kcal/g. La sal debe ser usada sólo para un nivel normal de sazónamiento.

Según Bone (1973), existen tres áreas sobre las cuales se puede ex

plorar para incrementar las chances de producir alimentos de humedad intermedia para el consumo humano:

- 1) Encontrar nuevos solutos.
- 2) Encontrar los caminos para aumentar los límites de concentración de los solutos disponibles (eliminar el gusto amargo del propilenglicol, la impresión de la glicerina, la dulzura de los azúcares, la destrucción de la calidad proteica por reducción de azúcares, etc.).
- 3) Encontrar el camino para establecer el control de a_w a menor concentración de solutos.

Esta última área probablemente sea la mas promisoria. Así lo entendieron E. Benmergui, C. Ferro Fontán y J. Chirife (1979) en una serie de trabajos donde examinan sistemáticamente la disminución de a_w en soluciones acuosas de electrolitos, además de la predicción de sus actividades de agua.

Controlar la a_w con nuevos solutos significa buscar compuestos los cuales exhiban una gran desviación negativa de la ley de Raoult, para así reducir la a_w con menor concentración de solutos y la consecuente reducción del impacto al sabor. E. Benmergui et al. (1979) estudiaron el comportamiento de mas de treinta electrolitos con el objeto de calcular cual es la concentración necesaria para obtener una a_w suficiente para estabilizar el alimento. Si bien la mayoría de los electrolitos presentan desviaciones negativas de la ley de Raoult, en ninguno de ellos esta desviación era lo suficientemente grande como para presentar una innovación con respecto al electrolito históricamente usado como es el cloruro de sodio.

La actividad de agua sola no es el único criterio que implica sa-

ber si va a haber o no crecimiento microbiano, sino de que la probabilidad de crecimiento microbiano, si bien en líneas generales está dada por el valor de la actividad de agua, depende también del soluto utilizado para reducir la actividad de agua. Es decir que hay un efecto específico soluto-microorganismo independientemente del efecto de reducción de a_w .

Baird Parker and Freame (1967) encontraron que con esporas de *Clostridium botulinum* en medios ajustados a diferentes a_w por el agregado de cloruro de sodio o glicerina, el comienzo del crecimiento no solo dependía de la a_w del medio, el mínimo de a_w al cual las esporas podían comenzar a crecer era más alto en el medio que contenía cloruro de sodio.

Calhoun and Frazier (1966) compararon el efecto de cloruro de sodio y glucosa (a concentraciones de igual a_w) sobre el crecimiento de *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens* y *Staphylococcus aureus*. Los dos solutos tienen el mismo efecto sobre el crecimiento del S.A. pero el cloruro de sodio inhibe el crecimiento de las otras bacterias más que la glucosa.

Marshall et al. (1971) compara los efectos inhibitorios de cloruro de sodio y glicerina sobre 16 especies de bacterias. Solo tres especies respondieron idénticamente a ambos solutos. Cuando se comparan niveles iguales de a_w , la glicerina era más inhibitoria que el cloruro de sodio sobre bacterias que toleran relativamente la sal y menos inhibitoria sobre especies sensitivas a la sal.

Estos resultados indican que el efecto inhibitorio no puede ser atribuido enteramente a la reducción de la actividad de agua en el alimento.

Sinskey (1976) definió 3 mecanismos por los cuales un humectante ac-

túa para controlar el crecimiento microbiano:

- 1) Disminuir la a_w
- 2) Disminuir la humedad disponible a un dado a_w
- 3) Un efecto microbiano específico

Labuza et al. (1972) prepararon banana y carne de cerdo de humedad intermedia por los métodos de adsorción y desorción a diferentes a_w . En la carne de cerdo se emplearon como humectantes el 1,2 propanodiol y el 1,3 butanodiol. A un a_w tan elevado como 0,92 ambos humectantes tenían acción bactericida. Igualmente cuando se combinaban con glicerina en la relación 3,5:1 presentaban el mismo comportamiento pero menos pronunciado. Para muestras preparadas por desorción, se obtiene un resultado similar.

Con respecto a la inhibición de crecimiento microbiano de los dioles podemos decir que cuanto mayor sea la cadena de carbonos de los poliholes menor es la concentración de diol requerida para inhibir el crecimiento microbiano. También la posición de los grupos hidroxilos afecta esta actividad antimicrobiana los 1,2 dioles son mas inhibitorios que los 1,3 dioles de una serie dada. Cuando los dioles son esterificados las propiedades inhibitorias de crecimiento también cambian, esta esterificación disminuye la concentración requerida para la inhibición y cuanto mayor sea la cadena esterificada mayor será el efecto antimicrobiano.

Un estudio similar con S.A. en carne de humedad intermedia era llevado a cabo por Plitman et al. (1973). Los datos de carne de cerdo eran preparados por desorción o adsorción usando glicerina, 1,2 propanodiol y 1,3 bu-

tanodiol como humectantes. A una a_w mayor de 0,83 en muestras por desorción ocurría proliferación microbiana, la fase de retardo en el crecimiento se extendía en forma casi constante por dos semanas y luego ascendía el número de células viables. Con muestras por adsorción a similares a_w no se observó ningún crecimiento neto durante las primeras tres semanas de almacenamiento, despúes de lo cual comenzaba a disminuir el número de células viables. Esto implica que los métodos (adsorción y desorción) usados para lograr una dada a_w son de gran importancia como criterio sobre el cual se basa la estabilidad de un alimento.

H. C. Warmbier et al. también discutieron este problema de el efecto específico, en particular el cambio en la dependencia de a_w sobre la velocidad de pardeamiento no-enzimático, cuando se incorporaba glicerina al alimento. Nuevamente el agregado de componentes específicos altera el comportamiento esperado entre a_w -velocidad de reacción.

Williams (1976), discute la estabilidad química y de nutrientes en alimentos de humedad intermedia, notando el efecto de las variables más importantes del almacenamiento en una variedad de reacciones degradativas.

Debemos reconocer que la producción de alimentos de humedad intermedia, está en una etapa de desarrollo tecnológico y a medida que aumenta ésta, con el fin de producir alimentos de humedad intermedia para la consumición humana, aumentan los problemas y las preguntas a responder.

En la producción de un nuevo producto, un aspecto importante, que se debe conocer, es el que concierne a su almacenamiento. Los factores que controlan este almacenamiento son:

- La interacción de los componentes del sistema
- El proceso utilizado
- La permeabilidad del envase a la luz, a los gases y a la humedad
- La distribución tiempo-temperatura-humedad relativa durante el transporte y almacenamiento

Un buen ejemplo de estos estudios, en carnes de humedad intermedia impregnadas en cloruro de sodio y glicerina, es dado por una serie de publicaciones de Obanu et al. (1975). Según estos autores durante el almacenamiento a 38°C las cantidades de aminoácidos se mantenían constantes en las seis primeras semanas (debido al efecto protector que ejerce la glicerina sobre los aminoácidos, no dejando que éstos se descompongan dando aminoácidos libres) pero más tarde comenzaban a decrecer. A la inversa, la hidroxiprolina aumentaba, indicando que el colágeno era progresivamente degradado. La descomposición ("breakdown") de las proteínas era asociado con el incremento de la ternura durante las tres primeras semanas, luego la resistencia al corte era variable y podía depender del balance entre las reacciones de descomposición y rotura de las cadenas ("crosslinking") en las proteínas. Concluyen diciendo que la textura y la rancidez no son factores limitantes en el almacenamiento de carnes de humedad intermedia.

Chirife et al. (1979, 1980) también realizaron estudios de estabilidad durante el almacenamiento de carne de humedad intermedia formulada con cloruro de sodio y glicerina como humectantes. Las piezas de carne de $a_w = 0,83$ no tenían una pérdida significativa de lisina durante 60 días a 27 y 34°C, ni aún con almacenamientos prolongados de 14 meses a 34°C donde el porcentaje

de lisina disponible era de 97.2%, en muestras similares a las usadas en este trabajo. Resultados con menor cantidad de lisina disponible obtiene Kearle et al. (1978) en carnes de humedad intermedia, de $a_w = 0,65$, atribuyendo la diferencia a que se pueden producir otro tipo de reacciones degradativas durante el almacenamiento.

II - OBJETO DEL TRABAJO

La técnica utilizada en este trabajo fue la de infusión húmeda, siendo carne vacuna (y de otros tipos) el alimento utilizado y una combinación de glicerina-cloruro de sodio-agua-sorbato de potasio (Brockman 1970, Kaplow 1970, Heidelbaugh and Karel 1975) la solución empleada. Diferencias en la actividad de agua entre el alimento y la solución causan la migración de agua desde el alimento hacia la solución que los rodea y de la misma manera hay una difusión de solutos, del medio circundante hacia dentro del alimento. A menos que la velocidad de migración de agua sea mucho más grande que la difusión de solutos, el alimento quedará impregnado con los solutos.

Con el objeto de diseñar en forma óptima, un proceso para la producción de carnes de humedad intermedia por el método de infusión húmeda, primero es necesario entender el proceso que ocurre en la carne cuando se la sumerge y cocina simultáneamente en una solución de a_w reducida. En este caso particular nos referimos a una solución de cloruro de sodio y glicerina por las razones expuestas en la Introducción.

El conocimiento básico del fenómeno que ocurre aquí es escaso. Algunos estudios similares han sido publicados sobre la penetración de sal en pescado (Del Valle and Nickerson 1967 a, b, Zugarramurdi and Lupín 1977) o de sal en queso (Geurts et al. 1974), pero estos estudios fueron realizados a temperatura ambiente o aún a temperaturas inferiores a la temperatura ambiente, es decir que la penetración de la sal no estaba asociada con una simultánea desnaturalización de la proteína por efecto del calentamiento. Los datos cinéti-

cos de penetración de glicerina en alimentos son mas escasos y prácticamente no existen en la literatura.

Por estos motivos, este trabajo tiene como objeto estudiar las características de la cinética de penetración de cloruro de sodio y glicerina en carne y la simultánea remoción de agua que ocurre en este proceso de inmersión-cocción en una solución de baja actividad de agua. Con este propósito se estudian dos aspectos fundamentales: uno referido al equilibrio cloruro de so dio-glicerina en el músculo y el otro es la velocidad a la cual se alcanza es te equilibrio.

III - PARTE EXPERIMENTAL

III.a - Equipo

El equipo consiste en un recipiente de acero inoxidable (MIC N^o 18) de cuatro litros de capacidad, el cual se llena con la solución de baja actividad de agua de cloruro de sodio y glicerina. A la cual se le agrega también sorbato de potasio, ya que si bien la actividad de agua no permite el crecimiento de bacterias, para evitar algún problema de hongos y/o levaduras.

Ambos, el recipiente y la solución, están inmersos en un baño termostático adecuadamente aislado. La temperatura del baño es controlada por un termostato (B. BRAUN MELSUNGEN N^o 15802 Made in Germany) en $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$. El recipiente tiene una tapa hermética, para minimizar las pérdidas por evaporación cuando se trabaja en el rango de temperaturas elevadas. La Fig. 1 muestra un esquema del sistema.

El dispositivo especialmente diseñado para mantener las muestras en la solución, con la tapa cerrada y con agitación constante, es el siguiente:

Consta de un tubo de metal de 1,5 cm. de diámetro externo y de 15 cm. de largo, en su extremo inferior se fija en forma perpendicular a su longitud una corona circular cuyo diámetro menor es de 1,5 cm. y su diámetro mayor es de 7 cm. El objeto de esta corona circular es hacer de apoyo a los marcos de aluminio, en los cuales se mantienen suspendidas las muestras. El propósito de que esta base tenga el mismo orificio que el del tubo, es para poder pasar a través de ellos, el eje de las paletas de agitación. La parte superior del tubo se introduce a presión, en un orificio que se practicó en el

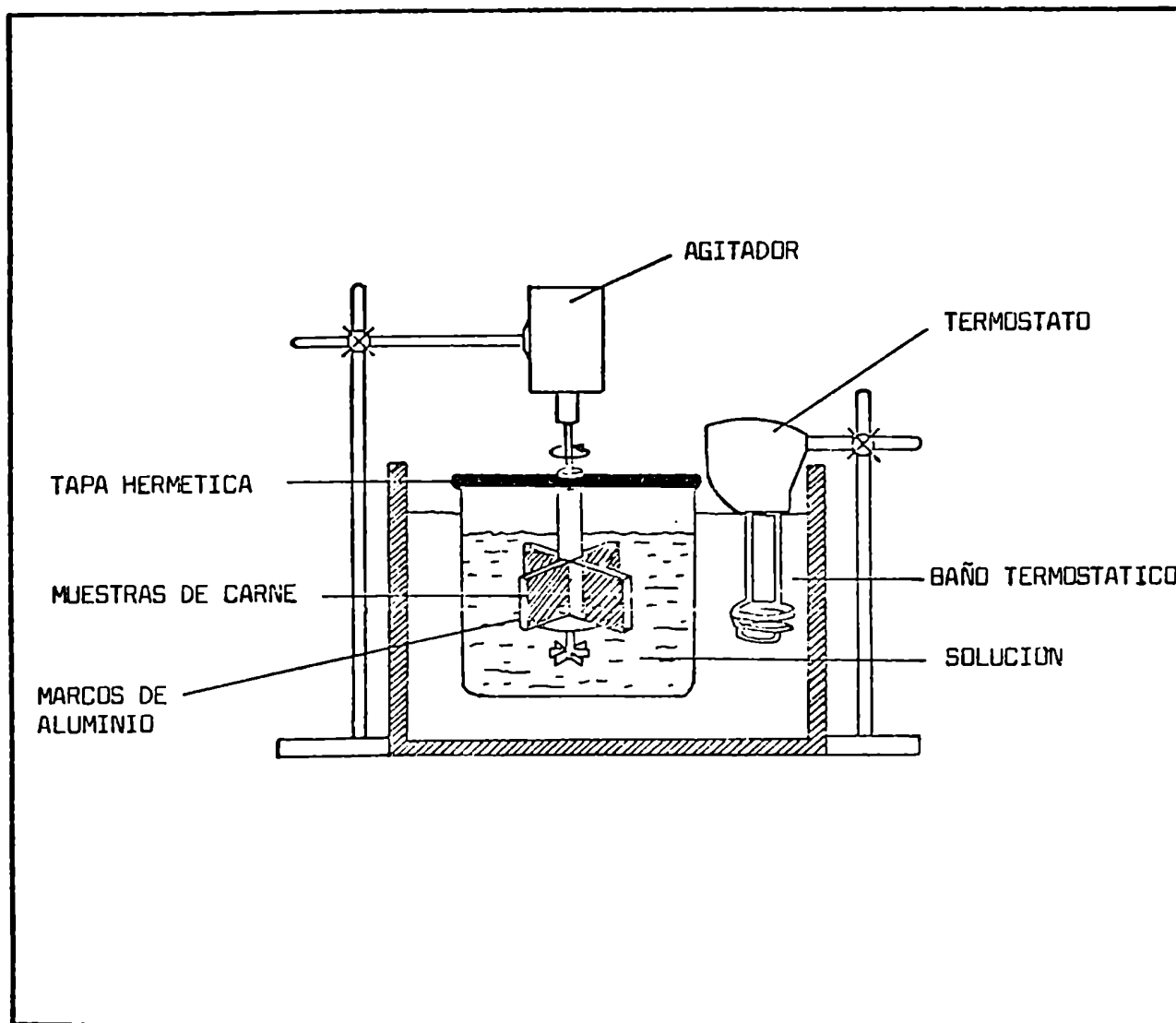


FIGURA 2 : Diagrama del equipo utilizado.

centro de la tapa del recipiente. De esta manera, el sistema de agitación es completamente independiente del sistema de sostén de las muestras, de modo que durante la toma de muestra, la agitación continuaba con el objeto de no perder homogeneidad.

Los marcos de aluminio que hacen de sostén de las muestras son de 5 x 5 x 0,9 cm. diseñados de tal manera que son un par de cuatro marcos cada uno. Cada juego de marcos está unido entre sí, por una placa cuadrada de aluminio que tiene un orificio central para permitir que el tubo pase a través de él. Uno de los cuatro lados de cada marco hace de base y se apoya sobre la corona circular que está unida al tubo. Además, como cada juego de marcos es en forma de cruz, se sitúan en el apoyo con un desfase de 45° , de esta manera las ocho muestras posibles para cada corrida quedan distribuidas en forma radial respecto del tubo central; recibiendo así las mismas condiciones de agitación y de flujo.

El agitador central usado para la solución de baja actividad acuosa (PRECYTEC N^o 400 Ind. Arg.) era de velocidad variable y en todas las corridas de este trabajo fue usado a 500 r.p.m.

Pese a que el termostato está provisto de un pequeño agitador, se agregó otro agitador externo (COMTEX Tipo CS 011412 Made in England) con el objeto de homogeneizar aún más el baño termostático. Este baño, consiste simplemente en una solución de agua y glicerina. El recipiente de acero inoxidable es mantenido dentro del baño, por un sistema de apoyo solidario con la pared externa del recipiente termostático. En las corridas de alta temperatura se ayudó a calentar el baño con resistencias externas (VITREC-SIL de 500 W

Made in England) de calentamiento continuo hasta alcanzar la temperatura deseada.

III.b - Material utilizado

Carne vacuna:

Se trabajó fundamentalmente con carnaza de cola o comúnmente llamada cuadrada, siempre libre de grasa y de tejido conectivo.

En algunas ocasiones se usó también carne de cerdo (corte llamado bondiola) y carne de pescado (atún congelado).

Constitución química y bioquímica de la carne:

En términos generales puede decirse que la carne contiene aproximadamente un 75% de agua, 16% de proteína, 3,5% de sustancias no proteicas solubles y un 3% de grasa (Lawrie 1967).

En la tabla 2 se detalla la distribución del 16% de proteína y del 3,5% de sustancias no proteicas solubles que contiene el músculo de carne.

III.c - Solución de baja actividad acuosa:

En las experiencias realizadas se usó una solución de glicerina, cloruro de sodio, agua y sorbato de potasio, en las siguientes proporciones:

GLICERINA	40,9 %
NaCl	9,4 %
SORBATO DE POTASIO	0,5 %
AGUA	49,2 %

TABLA 2

Composición química de un músculo típico de mamífero adulto
(% en base húmeda)

Agua:		75,5%
Proteína:		18,0%
Miofibrilar:	- miosina, tropomiosina, proteína X	7,5
	- actina	2,5
Sarcoplasmática:	- miógeno, globulina	5,6
	- mioglobulina	0,36
	- hemoglobina	0,04
Mitochondrial:	- Citocromo C	0,002
	- Colágeno	
	elastina	
	reticulina	
	enzimas insolubles	2,0
Grasa:		3,0%
Sustancias no proteicas solubles:		3,5%
Nitrogenadas:	- creatina	0,55
	- monofosfato de inosina	0,30
	- di- y tri- fosfopiridín nucleótidos	0,07
	- aminoácidos	0,35
	- carnosina, anserina	0,30
Carbohidratos:	- ácido láctico	0,90
	- glucosa-6-fosfato	0,17

TABLA 2 (continuación)

	- glucógeno	0,10
	- glucosa	0,01
Inorgánicos:	- fósforo soluble total	0,20
	- potasio	0,35
	- sodio	0,05
	- magnesio	0,02
	- calcio	0,007
	- zinc	0,005
	Trazas de intermediarios glucolíticos	
	trazas de metales, vitaminas, etc.	0,10

La actividad acuosa de esta solución fue calculada en base a la ecuación de Ross (Ross, 1975):

$$(a_w)_{\text{solución}} = (a_w^0)_{\text{glicerina}} \cdot (a_w^0)_{\text{NaCl}}$$

donde $(a_w^0)_{\text{glicerina}}$ y $(a_w^0)_{\text{NaCl}}$ son las actividades de agua de soluciones simples de glicerina y cloruro de sodio respectivamente, medidas a la misma concentración que tiene en la mezcla.

Por lo tanto, conociendo los datos de a_w de las soluciones simples, sacados de literatura, (Pitzer, 1973, Norrish, 1966), podemos calcular teóricamente la actividad de agua de la solución, que fue de 0,74.

La cantidad de solución utilizada para cada corrida fue de 3Kg., mientras que las ocho muestras de carne solo pesaban un total de 230 grs.

Esta gran diferencia entre la masa de solución y de carne permite suponer que no habrá cambios de concentración apreciables en la solución, debido a la entrada de agua desde la carne y a la pérdida de solutos hacia las placas de carne. Para cada corrida fueron preparadas soluciones nuevas.

III.d - Preparación del material

La carne fue comprada en carnicerías locales, luego fue congelada en una heladera (GENERAL ELECTRIC FREEZER Ind. Arg.) a una temperatura de -20°C durante 15 horas. Después de este período, la carne fue retirada de la heladera y colocada a temperatura ambiente hasta una incipiente fusión, en ese momento fue cortada, en forma perpendicular a las fibras, en placas con una

cortadora manual de alimentos (EVA Made in Denmark). El espesor de cada placa se determinó con un micrómetro a dial (MITUTOYO MFG, Made in Japan) cuyo error de lectura fue de $\pm 0,01$ mm.

El espesor de cada placa fue el resultado de promediar diez lecturas sobre distintas zonas de la placa. Luego se les daba forma de paralelepípedos de 5 x 5 cm. y de espesores que variaron desde 0,3 hasta 1,1 cm. El espesor de la corrida tipo fue siempre de 0,9 cm. Se trató en todos los casos, dentro de lo posible, de trabajar en condiciones de placa plana infinita, para poder plantear un modelo teórico adecuado.

Una vez obtenidas las placas de carne parcialmente congeladas, se fijaban a los marcos de aluminio por intermedio de elementos punzantes colocados a lo largo de las caras que forman el espesor. Los marcos, a su vez se fijaban al dispositivo de sostén, con una abrazadera en su parte superior. Una vez concluido esto, comenzaba cada corrida.

El mismo tratamiento que la carne vacuna, recibieron la carne de cerdo, la carne de pescado y la carne vacuna pretratada.

Esta carne vacuna pretratada fue aquélla en la cual se introdujeron las siguientes modificaciones, una a la vez, a la corrida tipo mencionada anteriormente:

- Precocción durante 90 minutos a 85°C .
- Congelamiento rápido, 45 minutos a -75°C .
- Agregado de ácido cítrico a la solución para dar un $\text{pH} = 3,75$.
- Corte paralelo a las fibras musculares.

III.e - Procedimiento experimental

Toma de muestra:

Cada corrida insume ocho muestras de carne, que se colocan inicialmente en la solución de baja actividad acuosa en las condiciones de operación establecidas (Temperatura, espesor, pH, etc.). La toma de muestra se realiza también a intervalos de tiempo preestablecidos, de acuerdo con las distintas condiciones del sistema. Cada muestra extraída se escurrió y luego se secó manualmente con un papel de filtro de poro grueso, siempre en iguales condiciones. Una vez hecho esto, cada muestra se envasó en pequeños sobres de polietileno de baja densidad. Las ocho muestras de cada corrida fueron a su vez envasadas al vacío (Selladora SCHOLNIK Mod. MW 4-174 Ind. Arg.) en un envase flexible de mayor tamaño.

Acondicionamiento de las muestras para determinar glicerina, cloruro de sodio, humedad y actividad de agua:

Las muestras de cada corrida, luego de envasadas, fueron congeladas en un freezer (LEC de Lujo Mod. F 393 Made in England) a -30°C durante aproximadamente 18 horas. Transcurrido este período, eran descongeladas a temperatura ambiente. La etapa siguiente fue el cortado, picado y triturado de las muestras por medio de una picadora manual (ZYLISS de Lujo Made in Swiss) y luego homogeneizadas para minimizar los efectos de borde. Toda esta etapa fue realizada en el menor tiempo posible para evitar pérdidas por evaporación.

De la cantidad total de muestra ya tratada se tomaron alícuotas para determinar glicerina, cloruro de sodio, humedad y actividad de agua. Duran

te los intervalos de tiempo entre cada una de estas determinaciones, las muestras eran nuevamente envasadas al vacío y congeladas en el mismo freezer. El mismo acondicionamiento se empleó para la carne de cerdo, pescado y pretratada.

III.f - Determinación de cloruro de sodio:

Este método se basa en el procedimiento del A.O.A.C. (1970). Se pesan 10 gramos de carne y se colocan en un erlenmeyer de 250 ml., se agrega un volumen conocido de nitrato de plata 0,1 N y 20 ml. de ácido nítrico. Se calienta a ebullición en una batería de mantos calefactores (COCTMAX 200 W, 250 ml. Ind. Arg.). El tiempo promedio de la disolución fue de 15 minutos. Luego se enfría a temperatura ambiente, se agregan 50 ml. de agua destilada y 5 ml. de indicador. Se titula con tiocianato de amonio 0,1 N hasta que la solución adquiera un color marrón oscuro. Se sustraen los mililitros de tiocianato de amonio usados de los mililitros de nitrato de plata iniciales y la diferencia da la cantidad de cloruro de sodio de la muestra.

$$1 \text{ ml. NO}_3\text{Ag } 0,1\text{N} = 0,058\% \text{ NaCl}$$

El indicador utilizado fue una solución saturada de sulfato férrico amónico $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$ que corresponde a un 40% en peso aproximadamente.

$$\% \text{NaCl} = \frac{(V_{\text{NO}_3\text{Ag}} \cdot N_{\text{NO}_3\text{Ag}} - V_{\text{SCN}} \cdot N_{\text{SCN}}) \cdot 10^{-3} \text{ PM NaCl} \cdot 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

III.η - Determinación de glicerina:

Este método se basa en el procedimiento del A.O.C.S. (1973) para determinar glicerina y otros polialcoholes que contienen tres o más grupos hidróxilos adyacentes. La glicerina reacciona con el meta-periodato de sodio en una solución ácida, formando aldehídos y ácido fórmico. Este último, es una medida de la glicerina que hay en la muestra.

Las muestras son descongeladas a temperatura ambiente, se toma una alícuota y se pesa exactamente. El peso aproximado de muestra a usar, se determina con la ayuda de la tabla 3. Cuando el contenido de glicerina no se conoce, se hace un test preliminar usando la cantidad especificada para 100% de glicerina. Con este resultado, el peso de la muestra puede ser seleccionado con exactitud.

Una vez pesada la muestra, se realiza una extracción de la glicerina que difundió a través de las fibras musculares de la carne, durante la deshidratación. Esta extracción se realiza en un vaso de precipitados, agregando la muestra pesada y 50 ml. de agua destilada caliente, a una temperatura aproximada de 80°C. Luego se coloca un agitador con paletas de filo cortante y se agita la solución, con el objeto de romper los pequeños pedazos de carne molida y así extraer de ellos, toda la glicerina. Se realizaron para cada muestra cuatro extracciones de 50 ml., durante cinco minutos cada una. Una vez completados los 200 ml. extraídos se lo filtra en una malla plástica de poro relativamente fino, se transfiere a un matraz de 250 ml. y se lleva a volumen. De allí, se pasa una alícuota de 50 ml. a un erlenmeyer de 250 ml. y esta solución es ahora la muestra con glicerina para analizar.

TABLA 3

Peso aproximado de muestra para determinar glicerina

<u>Glicerina en el producto</u> <u>a ser analizado (%)</u>	<u>Muestra a ser pesada</u> <u>(gramos)</u>
100 o menos	0,40 - 0,53
90 " "	0,45 - 0,55
80 "	0,50 - 0,60
70 "	0,55 - 0,75
60 " "	0,65 - 0,85
50 " "	0,80 - 1,00
40 "	0,90 - 1,30
30 " "	1,20 - 1,80
20 " "	1,80 - 2,60
10 " "	4,00 - 5,00
5 " "	7,00 - 11,00
2,5"	16,00 - 20,00
1,0" "	40,00
0,5" "	80,00

Procedimiento:

1 - Se agrega a la solución 5-7 gotas de indicador (azul de bromotimol) y se acidifica con ácido sulfúrico 0,2 N hasta obtener un color verde o amarillo verdusco bien definido. Neutralizar con hidróxido de sodio 0,05 N hasta un color azul definido, libre de verde. Como el color de la solución interfiere con la detección del cambio del indicador se debe usar un pHmetro (PRAZIS Mod. LE - S 173 con un electrodo METROHM AG 9100) y se ajusta a $8,1 \pm 0,1$.

2 - Preparar un blanco conteniendo 50 ml. de agua destilada y hacer idénticamente el mismo procedimiento que con la muestra. Ajustando el pH antes de agregar la solución de periodato de sodio.

3 - Agregar 50 ml. de solución de periodato de sodio, agitar suavemente, asegurar una mezcla completa. Esperar treinta minutos a temperatura ambiente y protegiéndolo de la luz.

4 - Al final de este período agregar 10 ml. de una solución de etilenglicol-agua al 50% y esperar veinte minutos.

5 - Diluir aproximadamente a 300 ml. y titular con hidróxido de sodio 0,1 N usando un pHmetro para determinar el punto final de pH $6,5 \pm 0,1$ para el blanco y de $8,1 \pm 0,1$ para la muestra. Cuando se aproxima el punto final agregar el hidróxido de sodio gota a gota.

$$\% \text{ glicerina} = \frac{(S - B) \cdot N \cdot 9,209}{W}$$

S = ml. de NaOH para titular la muestra

B = ml. de NaOH para titular el blanco. B no deber ser menor que 4,5 ml.

N = normalidad de NaOH

W = peso de la muestra en gramos.

III.h - Determinación de humedad:

La determinación de humedad se realizó de tres maneras distintas, a partir de una de las cuales surgió el método óptimo para determinar la humedad de las muestras, sin pérdida de glicerina. Los métodos utilizados fueron los siguientes:

- 1 - Método de estufa al vacío.
- 2 - Método de Karl - Fischer.
- 3 - Método de estufa a presión atmosférica.

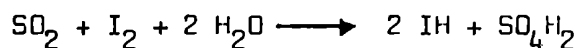
Método 1:

Se determina directamente poniendo la muestra en una estufa de vacío (TOWNSON and MERCER Made in England) a una presión absoluta de menos de 50 mm de mercurio y a una temperatura de 70°C durante 48 horas sobre perclorato de magnesio.

Método 2:

Este método determina el contenido de agua en grasas por titulación con el reactivo de Karl - Fischer, el cual reacciona cuantitativamente con el agua. El procedimiento es llevado a cabo, aplicando un voltaje de corriente continua a un electrodo doble de platino inmerso en la mezcla a titular. El cambio en la corriente, que pasa a través de la solución es medido durante el transcurso de la titulación. El reactivo de Karl - Fischer consiste en u-

na mezcla de iodo, dióxido de azufre, alcohol metílico y piridina. La reacción que ocurre es la siguiente:



El dióxido de azufre es oxidado en presencia de agua por el iodo y pasa a trióxido. Los productos de reacción están unidos por la piridina. Cuando toda el agua es consumida en la mezcla de reacción el iodo libre actúa como despolarizador, causando un flujo de corriente. El incremento de este flujo de corriente señala el punto final de la reacción.

La bureta y el recipiente deben estar ensambladas y protegidas con trampas llenas de material desecante para mantener la mezcla piridina-metanol-dióxido de azufre y a la solución de iodo-metanol libres de contaminación por humedad atmosférica. En nuestro caso utilizamos un vaso (METROM Mod EA 615) con tapa de cinco orificios, en los cuales se puede acomodar el electrodo, el termómetro, la bureta, etc. La agitación es magnética, pues el vaso está diseñado con este propósito. El instrumento utilizado para determinar el punto final fue un pHmetro (METROM TITRISKOP, E 366B) equipado con un electrodo doble de platino (MOD. Ea 235 METROM).

La ventaja de este método es que usualmente da un punto final muy claro. Para obtener buenos resultados, la solución debe tener muy buena conductividad y el área del electrodo debe estar en proporción con la corriente de polarización usada (para 3 uA corresponde 0,5 - 1.0 cm²)

El procedimiento es el siguiente:

- 1 - Pesar de 5 a 10 grs. de carne en un recipiente seco.
- 2 - Agregar 50 ml. de metanol usando un goma de succión para llenar la pipeta,

tapar el frasco y disolver la muestra.

3 - Cuando la solución está completa, agregar con un bureta 25 ml. de la solución de piridina-metanol-dióxido de azufre.

4 - Si el color de la solución permite el uso del punto final visual, unir el vaso por medio de un tapón de un solo agujero a un tubo y éste a la bureta, que está llena de solución iodo-metanol y titular. Agregar el reactivo lentamente pero constantemente, agitar bastante para conservar el color disipado. En el punto final cambia el color del amarillo al rojo.

5 - Titular hasta que el color rojo persista por lo menos un minuto.

6 - Si el punto final es determinado por voltametría, como en nuestro caso, pues la carne en solución enmascara el verdadero punto final de la titulación, se ajusta el instrumento hasta que no pase corriente entre los dos electrodos, se titula con la solución iodo-metanol y el punto final es cuando el incremento de la corriente persiste por mas de un minuto.

7 - Preparar un blanco usando 50 ml. de metanol. Llevar a cabo el procedimiento simultáneamente y en forma idéntica que con la muestra. Si el punto final de la muestra se determina por voltametría, el punto final del blanco se debe determinar de igual manera.

$$\% \text{H}_2\text{O} = \frac{Q_T \cdot V_{\text{rkf}}}{w}$$

Q_T = factor, agua pura pesada/ml. de reactivo utilizados

V_{rkf} = ml. del reactivo de Karl-Fischer usados en la muestra.

W = peso de la muestra.

Método 3:

En este método, se puso simplemente la muestra en una estufa a presión atmosférica (GRIFFIN OVEN 3/200 Made in England) mantenida a 50°C sobre ácido sulfúrico.

III.i - Determinación de la actividad de agua:

La determinación de actividad de agua se realizó por dos métodos a saber:

- 1 - Higrómetro de fibra
- 2 - Descenso crioscópico

Método 1:

Se usó un "a_w - Wert Messer" manufacturado por la firma G. LUFFT TALLBAROMETERFABRIK, Made in Germany. El instrumento consta de un caja de acero inoxidable, con una tapa que contiene el elemento sensor para medir la actividad de agua, además tiene un capilar termométrico de compensación de temperatura. La propiedad usada por el elemento de medida es el cambio de dimensión longitudinal de una fibra sintética que absorbe humedad. Esta fibra de respuesta sensitiva es una poliamida y el valor de actividad de agua medido, es leído directamente en un dial en la parte superior de la tapa.

El instrumento fue usado siguiendo el procedimiento de Chirife et al. (1979). El aparato fue cuidadosamente chequeado con seis diferentes soluciones saturadas de sales standards, en el rango de a_w entre 0,8 y 0,97. La curva de calibración fue obtenida con estas soluciones standard en una estufa a tempe-

ratura constante de $25^{\circ}\text{C} \pm 0,4$. Una correlación lineal excelente fue obtenida entre los valores de a_w medidos y los a_w leídos, como se puede apreciar en la figura 3. Las muestras de carne eran llevadas a la estufa de 25°C tres o cuatro horas antes de las medidas, para que alcancen el equilibrio térmico con el aparato de medición. La a_w era leída luego de cuatro horas de introducida la muestra y esta a_w leída era corregida con la curva de calibración. La calibración se repetía cada 48 horas y cada punto de la misma, llevaba tres horas para poder leer su valor de a_w . Las muestras eran medidas por triplicado tomándose el valor promedio. La precisión del instrumento fue determinada por Chirife et al. (1979) dando una desviación standard de 0,003 de a_w en el rango de 0,84-0,90. Las soluciones saturadas standard usadas fueron las siguientes:

	a_w (a 25°C)
Sulfato de potasio	0,970
Cloruro de bario	0,902
Nitrato de potasio	0,925
Cloruro de sodio	0,750
Sulfato de amonio	0,800
Cloruro de potasio	0,845

Método 2:

Se usó este método para determinar a_w en el jugo de la carne basado en el descenso crioscópico causado por los solutos disueltos en el agua de la carne. El método fue el siguiente:

La carne fresca era sumergida en agua pura destilada a dos temperaturas 30 y 85°C , se tomaron muestras a tiempos pre-establecidos, con el obje-

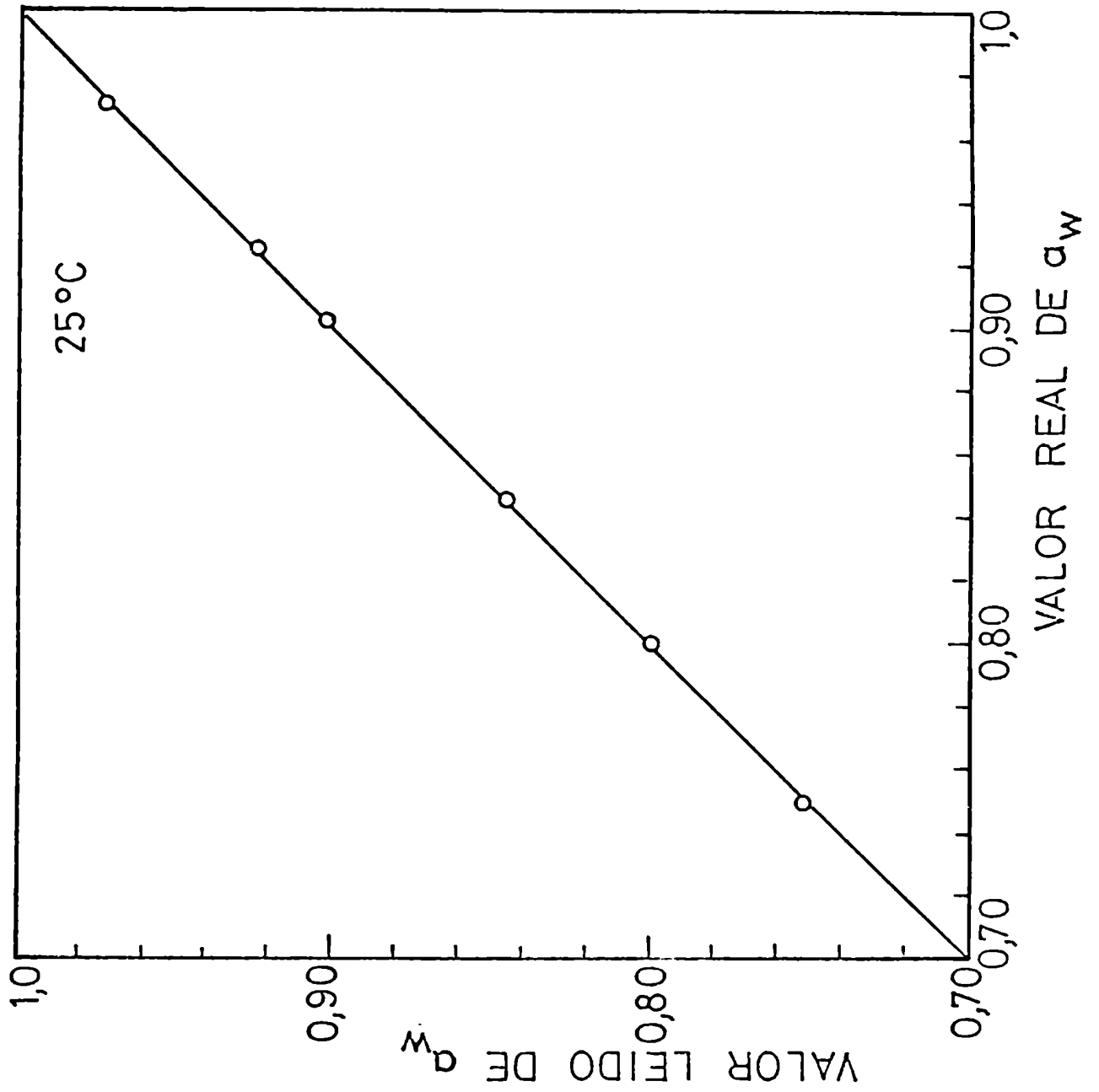


FIGURA 3 : Curva de calibración típica de los higrómetros.

to de ver como variaba la concentración de sólidos solubles en el agua de la carne, a través del tiempo.

Además se tomó una muestra de carne fresca para determinar el descenso del punto de congelación con los solutos iniciales. La solución de agua y solutos disueltos se extraía por medio de una trituradora manual, inmediatamente se centrifugaba a 3000 r.p.m. durante veinte minutos aproximadamente. Luego se filtraba (WHATMAN 41) y una vez obtenida la solución límpida se medía el descenso crioscópico en un crioscopio para leche (ADVANCED INSTRUMENT Mod. 4L Made in U.S.A.). Los datos obtenidos eran transformados en unidades de actividad de agua.

III.j - Repetitividad de las determinaciones de cloruro de sodio y glicerina:

Con el objeto de cuantificar la repetitividad experimental de la cinética de entrada de solutos (cloruro de sodio y glicerina) en la carne, se realizó una corrida a 70°C y 0,9 cm. de espesor durante una hora. Se tomaron ocho muestras y a cada una de las cuales se las dividió en dos porciones. A cada porción se la acondicionó y se le determinó cloruro de sodio y glicerina de igual forma que la descrita anteriormente. Los resultados aparecen en la tabla 4. A partir de estos grupos de mediciones se obtuvieron los valores promedio y el valor estimado de la desviación standard, tanto para cloruro de sodio como para glicerina, que fueron los siguientes:

$$\begin{array}{ll} \bar{x}_{\text{ClNa}} = 3,90 & s_{\text{ClNa}} = 0,17 \\ \bar{x}_{\text{glic.}} = 11,83 & s_{\text{glic.}} = 0,65 \end{array}$$

Tabla 4: Repetitividad en las determinaciones de cloruro de sodio y glicerina

MUESTRA	% ClNa (g/g muestra)	% Glicerina (g/g muestra)
1	3,67	11,47
1'	3,62	10,67
2	3,84	12,07
2'	3,94	11,26
3	3,94	11,79
3'	3,99	12,05
4	4,08	12,40
4'	4,00	12,24
5	3,94	12,36
5'	4,19	12,97
6	3,64	10,72
6'	3,74	11,12
7	3,90	11,83
7'	3,77	11,63
8	4,07	12,12
8'	4,02	12,55

IV - RESULTADOS Y DISCUSION

IV.a - Determinación de humedad:

Se estudió detalladamente el procedimiento a seguir para la determinación del contenido de humedad en carne vacuna de humedad intermedia deshidratada en soluciones de baja actividad acuosa de cloruro de sodio y glicerina.

Como conclusión de este estudio se plantean las dificultades observadas para la determinación gravimétrica convencional del contenido de humedad en carne deshidratada en soluciones de sal y glicerina y se propone un método satisfactorio.

La glicerina, es uno de los compuestos químicos más empleados para disminuir la actividad de agua en alimentos de humedad intermedia. Ha sido ampliamente utilizada (usualmente en combinación con cloruro de sodio), para ligar agua en una variedad de alimentos de humedad intermedia, incluyendo carnes, vegetales y salsas (Kaplou 1970, Brockman 1970, Heidelbaugh y Karel 1975).

Varios autores han determinado el contenido de humedad de alimentos de humedad intermedia, que contenían glicerina, usando el método gravimétrico. Esta humedad se calculaba en base a la diferencia de peso entre la muestra inicial y la muestra secada en estufa, hasta alcanzar la constancia de peso. Por este camino, Johnson et al. (1972) determinan el contenido de humedad de carne de cerdo y jamón de humedad intermedia que contienen glicerina, usando una estufa a 130°C. Kaplow y Halik (1972) determinaron el contenido de humedad de varios alimentos de humedad intermedia equilibrados con soluciones de clo-

ruro de sodio y glicerina, usando el método de la estufa de vacío. Pavery (1972) calcula el contenido de humedad de varios alimentos de humedad intermedia incluyendo carne, zanahoria, ananá, etc., usando una estufa de vacío a 70°C (presión de menos de 50 mmHg). Warburton y Pipton (1975) determinan el contenido de humedad, en alimentos que contenían trigo con glicerina humidificados, por secado a 113°C en una estufa ventilada mecánicamente. Obanu et al. (1975) determinaron el contenido de humedad en carne de humedad intermedia equilibrada en soluciones de glicerina y cloruro de sodio, usando una estufa de vacío a 70°C y una presión absoluta de menos de 50mmHg.

En un trabajo previo hecho en este laboratorio (Iglesias and Chirife, 1976) se determinó gravimétricamente, en estufa de vacío a 70°C durante 48 horas, el contenido de humedad de carne cocida sin el agregado de glicerina y se coccida en corriente de aire. Con este procedimiento, se alcanzaba una aproximación razonable del equilibrio y los resultados del contenido de humedad de las diversas muestras eran reproducibles. En vista de esto y como primer intento para determinar humedad en las muestras de carne con el agregado de glicerina y cloruro de sodio se utilizó el método arriba descrito en muestras de carne de humedad intermedia que contiene un 18,9% de glicerina en base húmeda. Como se puede apreciar en la figura 4 no se alcanza el equilibrio en ninguna de las diferentes muestras, aún después de 72 horas de tratamiento en una estufa de vacío sobre perclorato de magnesio.

Este comportamiento se atribuyó a la lenta evaporación de la glicerina desde la carne durante el curso de la determinación de humedad. Para comprobar esta hipótesis, se realizaron las siguientes experiencias. Una muestra

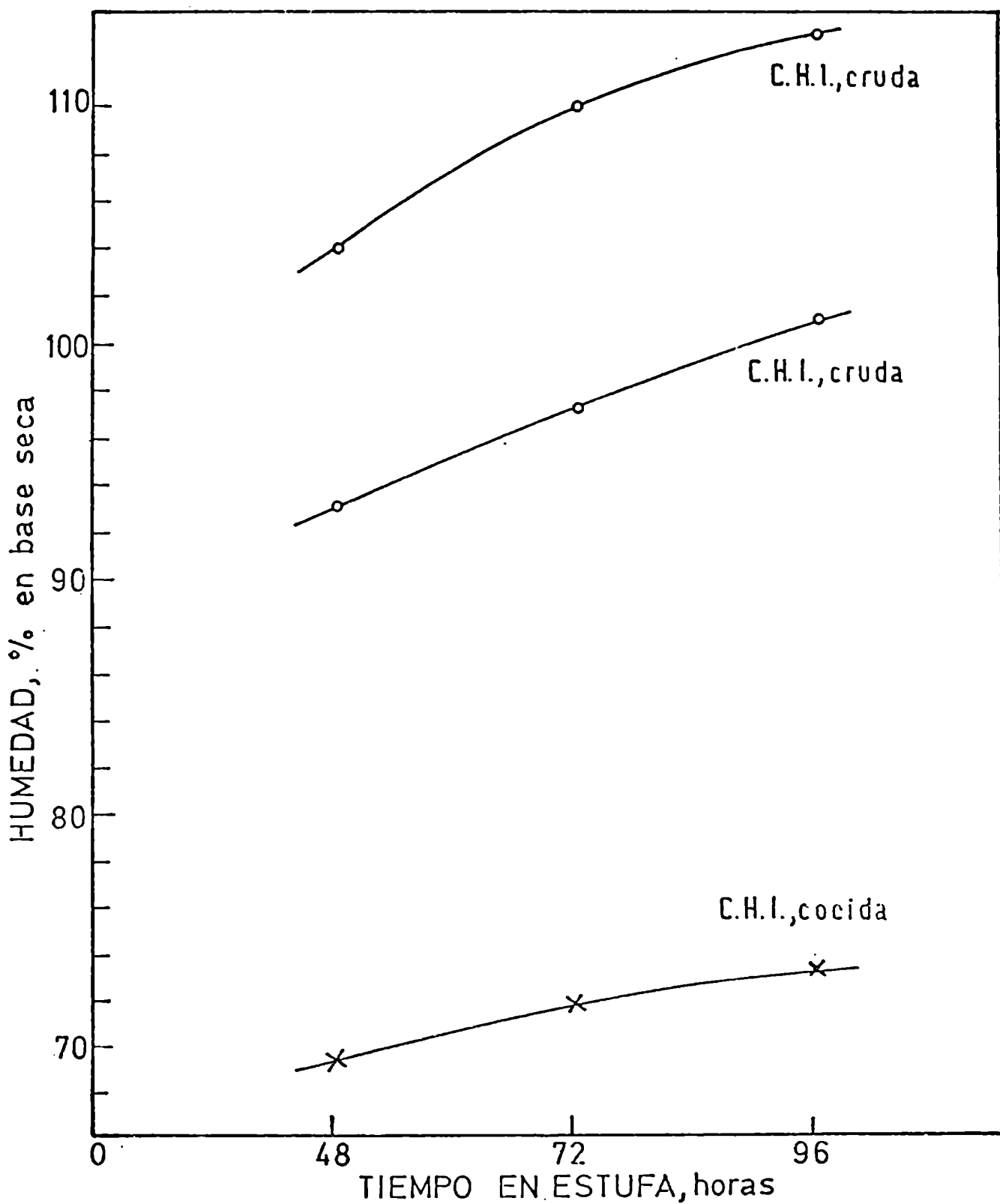


FIGURA 4 : Evolución de la humedad durante su determinación en estufa de vacío a 70°C.

de carne de humedad intermedia cocida fue triturada y molida, bien mezclada y separada en tres porciones: una de ellas se secó en una estufa de vacío a 70°C sobre perclorato de magnesio, durante 28 horas, la segunda de las muestras se secó en una estufa a presión atmosférica pero a 50°C y sobre ácido sulfúrico concentrado, mientras que la tercera porción se destinó para la determinación de contenido de humedad por el método de Karl-Fischer. En las muestras en las que se determinó la humedad gravimétricamente se hizo una determinación de glicerina antes y después del tratamiento de secado. Todas las determinaciones fueron hechas por duplicado.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 5. Se puede apreciar que ambas determinaciones gravimétricas (ya sea a 70°C al vacío o a 50°C a presión atmosférica) conducen a una pérdida significativa de glicerina contenida en la carne. En el caso de las determinaciones a 70°C en estufa de vacío la cantidad de glicerina perdida fue de 20,6%. En concordancia con estos resultados, el contenido de humedad "aparente" determinado gravimétricamente, fue siempre más alto que el determinado por el método de Karl-Fischer, corroborando que en las determinaciones gravimétricas los datos estaban falseados por la pérdida simultánea de glicerina; el error cometido depende de las condiciones de operación.

Con el objeto de investigar otro procedimiento gravimétrico alternativo, que fuese satisfactorio, se realizó la siguiente experiencia. Aproximadamente tres gramos de muestra triturada de carne de humedad intermedia cocida se colocaron en una estufa a presión atmosférica a la temperatura de 40°C

Tabla 5: Comparación de determinaciones de humedad y retención de glicerina en carnes de humedad intermedia usando diferentes procedimientos de determinación de humedad.

Método	contenido de humedad (% base seca)	retención de glicerina (%)
Estufa de vacío, 70°C 88 horas	59,2	79,4
Estufa a presión at- mosférica, 50°C, 88 horas	54,1	96,7
Karl-Fischer	49,3	

sobre ácido sulfúrico y se siguió la evolución del peso en función del tiempo. Aunque una constancia absoluta de peso no se alcanzó aún después de 113 horas, se observó que luego de las 48 horas las pérdidas eran lo suficientemente pequeñas como para suponer una constancia de peso con un mínimo de error. Se de terminó paralelamente el contenido de glicerina en la muestra antes y después del procedimiento estandarizado de secado y no se observó ninguna pérdida significativa.

Para establecer la validez del procedimiento gravimétrico desarrollado para determinar la humedad de muestras de carne de humedad intermedia se realizó el siguiente experimento: dieciséis muestras de carne de humedad intermedia con diferentes contenidos de humedad, se analizaron usando ambos métodos, es decir, el gravimétrico (secado a 40°C sobre ácido sulfúrico a presión atmosférica) y el de Karl-Fischer. Los resultados se muestran en forma gráfica en la figura 5 y correlacionados de acuerdo a la expresión,

$$h_{kf} = S h_g$$

donde h_{kf} y h_g son contenidos de humedad, calculados a través de los métodos de Karl-Fischer y gravimétrico respectivamente. Con el objeto de determinar si ambos métodos eran equivalentes, el valor más probable de la constante $S(s)$ era estadísticamente evaluado y la desviación standard σ_s era calculada. Para este propósito los errores de las determinaciones de humedad individuales para ambos métodos eran obtenidas. Un procedimiento iterativo como el realizado por York (1966) era luego aplicado y se obtuvieron los siguientes valo

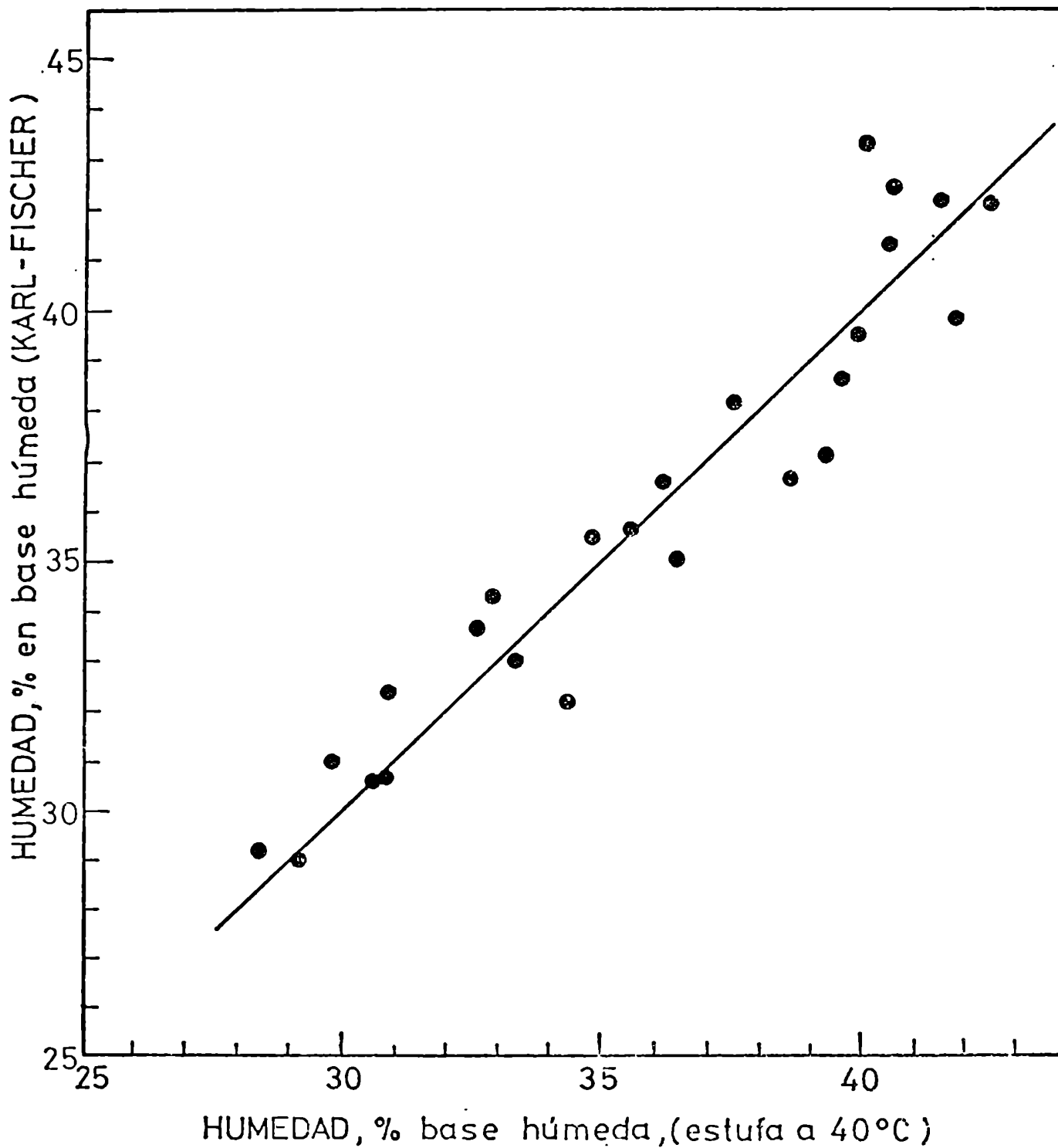


FIGURA 5 : Humedades obtenidas por los métodos gravimétrico (secado a 40°C sobre ácido sulfúrico a presión atmosférica) y de Karl-Fischer.

res:

$$s = 0,999$$

$$\sqrt{s} = 0,010$$

Este método tiene un riesgo estadístico del 5% y los límites de confianza de s son

$$0,979 \leq s \leq 1,019$$

Estos resultados confirman que el procedimiento de determinación de humedad en estufa a 40°C durante un período de 48 horas conducen a valores concordantes con los obtenidos por el método de Karl-Fischer. Esto significa que el procedimiento gravimétrico aquí desarrollado constituye un método que permite en forma selectiva la evaporación de casi la totalidad del agua con pérdidas despreciables de la glicerina presente.

IV.b - Estudio de equilibrio

En general, el problema en cualquier método de deshidratación o concentración es la separación del agua del resto del alimento. En principio, tenemos dos alternativas para ello: remover el agua de cualquier otro material (como en una evaporación selectiva) o remover el otro material del agua (como un proceso por el cual todos los solutos son absorbidos por un sólido absorbente o un proceso en el cual el agregado de un agente químico produce la precipitación de dichos solutos). El hecho de que los alimentos son mezclas muy complejas, hace que en la mayoría de los casos sea el agua la que es removida selectivamente del resto del alimento.

Estas mezclas pueden ser soluciones líquidas, emulsiones, suspensiones, productos con consistencia de pasta (almidón, gluten), geles, polvos **parcialmente** secos (leche en polvo), materiales fibrosos o materiales cortados en forma de dados (zanahoria, vegetales y frutas).

Existen más de veinte procesos de separación para mezclas homogéneas y pueden ser divididos en dos clases fundamentales, a saber:

- Procesos de equilibración: en los cuales se contacta el alimento con una segunda fase en la cual el agua tiene un potencial termodinámico menor ($\mu_{w, \text{material}} > \mu_{w, \text{fase}}$) y se deja que ambas fases alcancen el equilibrio.

- Procesos gobernados por la velocidad: en los cuales se alcanza la separación a través de diferencias en las velocidades de permeación o difusión de las sustancias a través de algún medio, generalmente una membrana. En este último caso también se contacta el alimento con una segunda fase, pero separados por una membrana. Además la segunda fase también debe tener un potencial termodinámico del agua menor que el del alimento.

En la tabla 6 aparecen las distintas alternativas en cuanto al estado (sólido, líquido, gas o vapor) que puede tener el alimento (1) y la segunda fase (2). Además se subdivide con respecto a los medios por los cuales se logra disminuir el potencial termodinámico del agua en la segunda fase. En general el potencial químico del agua en la segunda fase se puede alterar cambiando la presión, la temperatura o la composición. La fórmula de la fugacidad del agua en esta segunda fase aparece en otra de las columnas de la tabla mencionada.

Tabla 6: Diferentes procesos de separación de agua desde un material alimenticio.

ALIMENTO (1)	SEGUNDA FASE (2)	MEDIO PARA DISMINUIR a_w EN LA SEGUNDA FASE	EXPRESION DE $f_{w,2}$	EJEMPLOS
I - Procesos de equilibración				
1.-Mezcla líquida $f_{w,1} = \chi_{w,1} \cdot x_{w,1} \cdot f_{w,1}^0$	1.1.-Vapor de agua	Segunda fase a menor presión (vacío) y/o: alimentación a alta temperatura	$f_{w,2} = \psi_{w,2} \cdot P_2$	Secado al vacío Evaporación Secado con vapor sobrecalentado
	1.2.-Gas transportador	Composición (puede ser baja P, alta T)	$f_{w,2} = \psi_{w,2} \cdot y_2 \cdot P_2$	Secado por corriente de aire
	1.3.-Líquido inmiscible	Composición	$f_{w,2} = \chi_{w,2} \cdot x_{w,2} \cdot f_{w,2}^0$	Extracción
	1.4.-Sólido	Segunda fase a menor temperatura	$f_{w,2} = f_{w,2}^0 \cdot \exp(\Delta H^f (1 - \frac{T}{T_t}))$	Crioconcentración
		Composición (precipitación de hidratos) Adsorción	-	Formación de clatratos -
			$f_{w,2} = \text{isoterma de adsorción}$	

(continúa)

Tabla 6: (Continuación)

ALIMENTO (1)	SEGUNDA FASE (2)	MEDIO PARA DISMINUIR a_w EN LA SEGUNDA FASE	EXPRESSION DE $f_{w,2}$	EJEMPLOS
2.-Sólido húmedo (temperatura del agua por encima de T_t)	2.1.-Vapor de agua	Segunda fase a menor presión (vacío) y/o: alimentación a alta temperatura	$f_{w,2} = \psi_{w,2} \cdot P_2$	Secado al vacío Evaporación Secado con vapor sobrecalentado
	2.2.-Gas transportador	Composición (puede ser baja P , alta T)	$f_{w,2} = \psi_{w,2} \gamma_2 P_2$	Secado por corriente de aire
	2.3.-Líquido inmiscible	Composición	$f_{w,2} = \chi_{w,2} x_{w,2} f_{w,2}^0$	Extracción
3.-Sólido congelado (temperatura del agua por debajo de T_t : hielo) $f_{w,1} = f_{w,1}^0 \cdot \exp(H_f(1 - \frac{T}{T_t}))$	3.1.-Vapor de agua	baja presión	$f_{w,2} = \psi_{w,2} \cdot P_2$	Liofilización
	3.2.-Gas transportador	Composición + baja presión	$f_{w,2} = \psi_{w,2} \gamma_2 P_2$	Liofilización con gas transportador
	3.3.-Líquido	Composición	$f_{w,2} = \chi_{w,2} x_{w,2} f_{w,2}^0$	Extracción por congelado
II - Procesos gobernados por la velocidad				
1.-Mezcla líquida $f_{w,1} = \chi_{w,1} x_{w,1} f_{w,1}^0$	agua líquida	alimentación a: alta P alta T	$f_{w,2}^i = f_{w,2}^0$ $f_{w,2} = f_{w,2}^0$	Ultrafiltración/ Osmosis inversa --
	Líquido acuoso	Composición (agregado de solutos)	$f_{w,2} = \chi_{w,2} x_{w,2} f_{w,2}^0$	Deshidratación osmótica

El proceso remarcado en la tabla 6 es el utilizado en este trabajo. Está incluido dentro del grupo de procesos gobernados por la velocidad (de difusión en este caso particular) aunque no exista una membrana selectiva, sino la pared celular natural de la carne. Por lo tanto la carne vacuna (fase 1) perderá agua pero recibirá de la solución de baja a_w (fase 2) los solutos correspondientes. De esta manera si nosotros no renovamos la segunda fase para mantener la fuerza impulsora de a_w llegaremos a un equilibrio (ver figura 6) en el cual se cumple:

$$\begin{aligned}\mu_{w, \text{ material}} &= \mu_{w, \text{ fase}} \\ T_1 &= T_2 \\ P_1 &= P_2\end{aligned}$$

Si basamos nuestras discusiones en la actividad, en lugar de hacerlo en los potenciales termodinámicos tendremos (Prausnitz, 1969):

$$\mu_i = \mu_i^0 + R T \ln \frac{f_i}{f_i^0} = \mu_i^0 + R T \ln a_i$$

donde f_i es la fugacidad del componente i

f_i^0 es la fugacidad de referencia

μ_i^0 es el potencial de referencia

a_i es la actividad del componente i

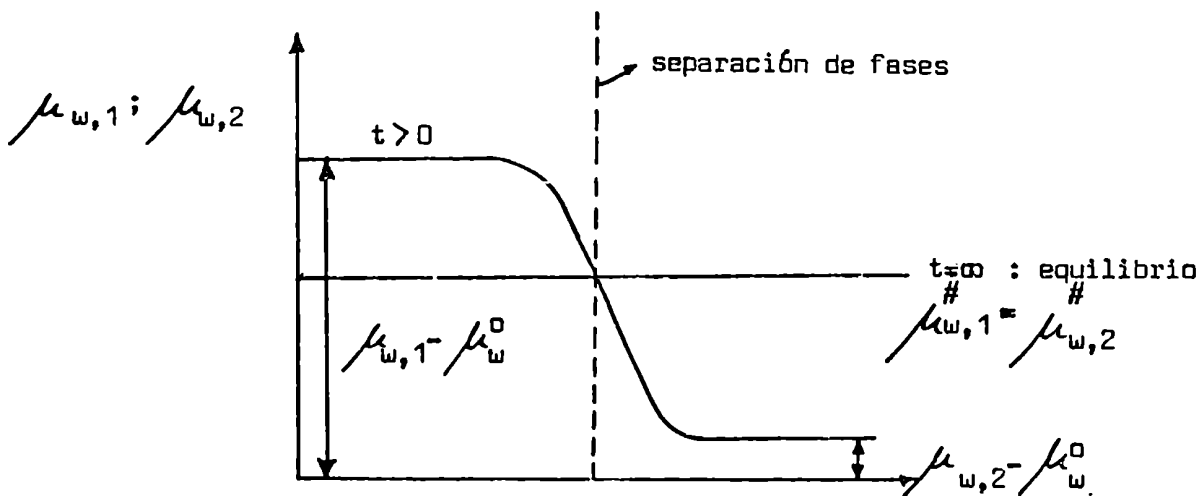
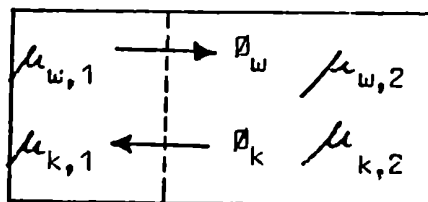
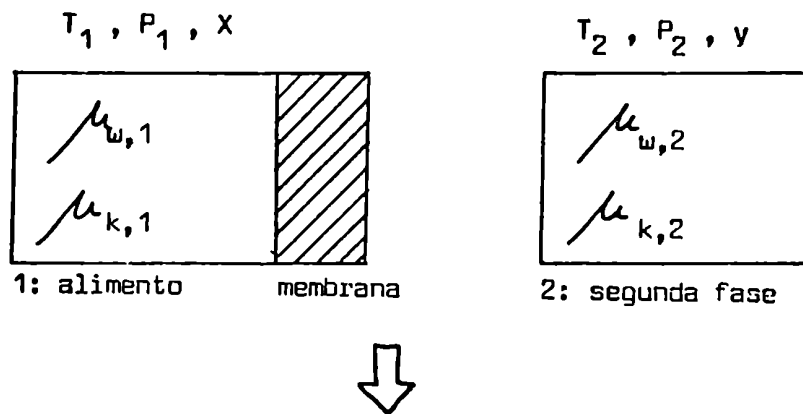


FIGURA 6 :Evolución de las fases (1:carne vacuna , 2:solución de cloruro de sodio y glicerina) y del potencial químico hacia el equilibrio.

Las siguientes expresiones pueden ser escritas para el equilibrio de la carne inmersa en una solución de cloruro de sodio y glicerina. Para cloruro de sodio,

$$a_{\text{ClNa}|b} = a_{\text{ClNa}|s}$$
$$\gamma_b^2 [\text{Cl}^-]_b [\text{Na}^+]_b = \gamma_s^2 [\text{Cl}^-]_s [\text{Na}^+]_s$$

Para glicerina,

$$a_{\text{glic}|b} = a_{\text{glic}|s}$$
$$F_b [\text{glicerina}]_b = F_s [\text{glicerina}]_s$$

donde los γ son los coeficientes de actividad media del cloruro de sodio en la carne (b) y en la solución (s) y los F son los coeficientes de actividad media de glicerina en la carne (b) y en la solución (s). Se debe hacer notar que los coeficientes de actividad corresponden a un sistema ternario agua-sal-glicerina.

Si suponemos que la carne actúa solamente como un soporte inerte y que las concentraciones de los iones Cl^- y Na^+ en la carne y en la solución externa son iguales, entonces podemos aplicar:

$$\gamma_b / \gamma_s = 1 \text{ y } F_b / F_s = 1$$

Varios estudios sobre salado de pescado (Del Valle y Nickerson 1967

a, b; Zugarramurdi y Lupín, 1975) han mostrado que las condiciones de equilibrio entre el músculo de pescado y la salmuera estaba dado por la igualdad de las concentraciones de sal en el agua del tejido muscular y en la salmuera. De acuerdo con esto, las condiciones de equilibrio entre la carne y la solución externa puede ser tomada como la igualdad de la concentración de ClNa y glicerina en el agua del tejido muscular y en la solución. Esto implica suponer que tanto la glicerina como el ClNa están disueltos en toda el agua del sistema (tejido muscular y solución).

Esto se verificó de la siguiente manera. Las placas de carne se sumergieron en la solución de baja actividad acuosa a 30, 70 y 85°C hasta alcanzar el equilibrio y se determinó:

- 1) ClNa en el músculo y en la solución
- 2) Glicerina en el músculo y en la solución
- 3) Humedad en el músculo de carne

Todos los análisis fueron hechos por duplicado. La relación de equilibrio o coeficiente de distribución se definió como:

Para cloruro de sodio,

$$K_S = \frac{\frac{\text{moles de ClNa}}{\text{masa de agua}} \text{ (carne)}}{\frac{\text{moles de ClNa}}{\text{masa de agua}} \text{ (solución externa)}}$$

Para glicerina,

$$K_G = \frac{\frac{\text{moles de glicerina}}{\text{masa de agua}} \text{ (carne)}}{\frac{\text{moles de glicerina}}{\text{masa de agua}} \text{ (solución externa)}}$$

La tabla 7 muestra los resultados de la relación de equilibrio, donde podemos ver que dentro de los límites del error experimental, las condiciones de igualdad se cumplen tanto para cloruro de sodio como para glicerina y el coeficiente de distribución calculado sobre esta base, es cercano a la unidad.

Las pequeñas desviaciones, pueden ser atribuidas entre otras a uno o ambos de los siguiente factores:

- a) no toda el agua en la carne es capaz de actuar como solvente para los solutos, una pequeña cantidad está unida a grupos específicos de proteínas (Karel, 1973)
- b) no todo el cloruro de sodio está en solución, algo puede estar unido a las proteínas de la carne (Karel, 1973).

IV.c - Análisis difusional de la entrada neta de solutos

Durante la inmersión-cocción en una solución de baja actividad de agua, la carne vacuna, pierde agua y gana cloruro de sodio y glicerina. El proceso es complejo ya que en el rango de temperaturas usadas el agua es removida desde la carne, no solo, por una fuerza impulsora de a_w , sino también debido a la desnaturalización de proteínas, como resultado de la cocción. Hay varios caminos posibles para expresar la concentración de solutos (tanto de cloruro de sodio como de glicerina) en la carne. La mejor manera de expresar la entrada de solutos es usando una base constante, como la de sólidos de la carne,

$$\frac{\text{masa de soluto}}{\text{masa total} - \text{masa de agua} - \text{masa de cloruro de sodio} - \text{masa de glicerina}}$$

Tabla 7: Valores de la relación de equilibrio para cloruro de sodio y glicerina a varias temperaturas

<u>Temperatura</u>	<u>K_S</u>	<u>K_G</u>
°C		
30	0,95	1,02
70	1,06	0,99
85	1,09	0,97

S : Cloruro de sodio

G : Glicerina

La figura 7 muestra la entrada neta de cloruro de sodio y glicerina y la simultánea pérdida de agua en la carne durante la inmersión-cocción a 85°C en una solución de baja actividad acuosa (0,74). La gran influencia de la temperatura sobre la pérdida de agua es indicada en la figura 8 la cual muestra la cinética de remoción de agua desde la carne a varias temperaturas. Aquí se ve que en las corridas de mayor temperatura se alcanza un menor contenido de agua (sobre la base constante de sólidos de la carne) lo cual sugiere que las pérdidas por cocción son predominantes comparadas con las de difusión propiamente dichas. Esto se verifica en la figura 8 observando las curvas que muestran la pérdida de agua desde las placas de carne que fueron cocidas en agua pura a temperaturas similares. Podemos ver que la pérdida de agua por causa de la desnaturalización de proteínas es muy significativa.

La figura 9 muestra el efecto de la agitación de la solución sobre la entrada neta de solutos como una función del tiempo de inmersión a 85°C . Podemos ver que la agitación tiene un efecto significativo sobre la entrada neta de glicerina, mientras que para cloruro de sodio el efecto es mucho menos importante. Sobre la base de estos resultados una vigorosa agitación de la solución fue usada en todas las experiencias para minimizar las resistencias a la transferencia de masa en la solución externa.

Varios estudios han sido reportados sobre la cinética de cloruro de sodio durante el salado de músculo de pescado. Del Valle y Nickerson (1967,b) y Zugarramurdi y Lupín (1977) -entre otros- demostraron que este fenómeno de penetración de sal sigue la ley de Fick. Estos estudios se hicieron a temperaturas muy inferiores (usualmente a 25°C) a las usadas en este trabajo.

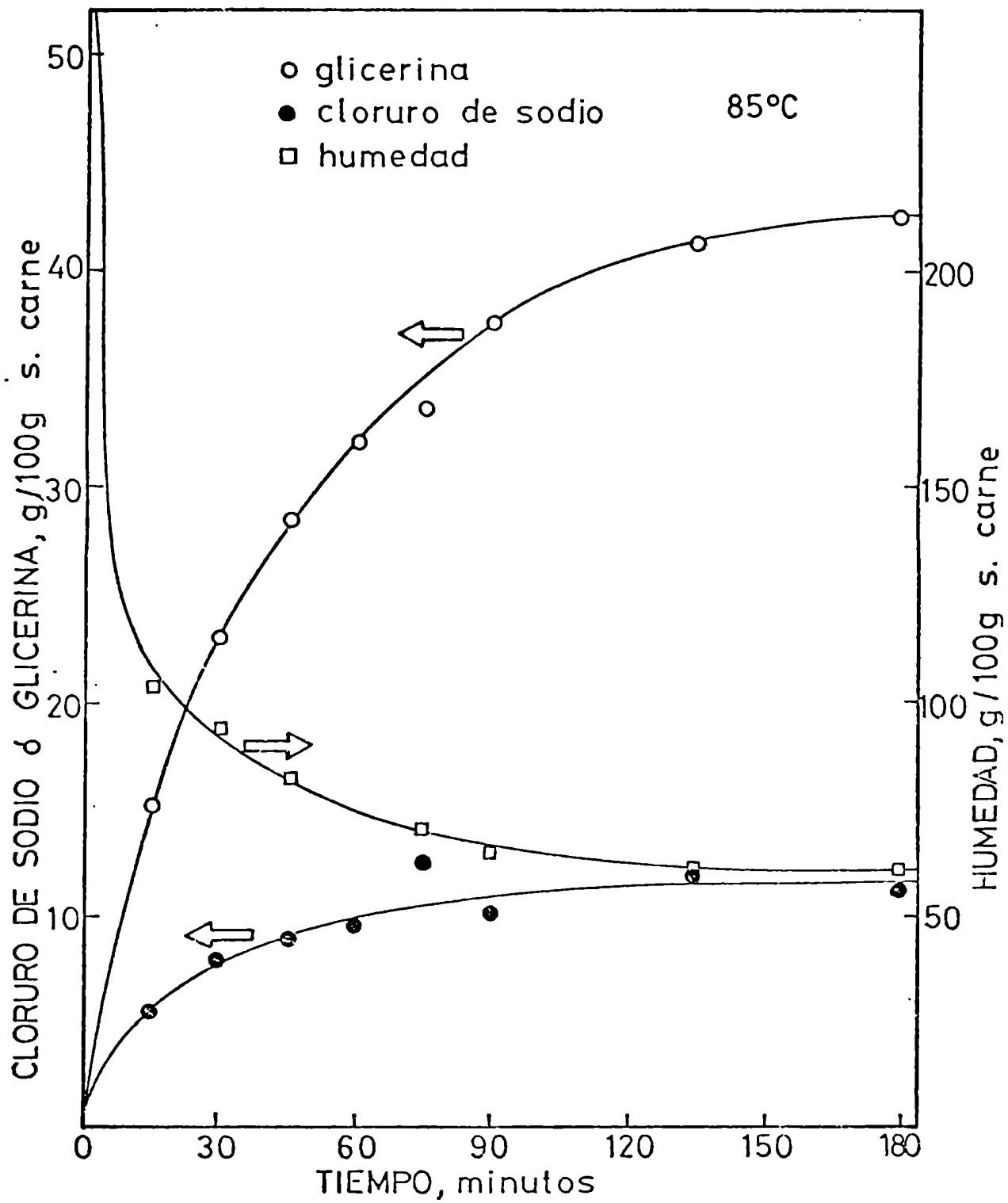


FIGURA 7 : Evolución de cloruro de sodio, glicerina y humedad durante la deshidratación a 85°C.

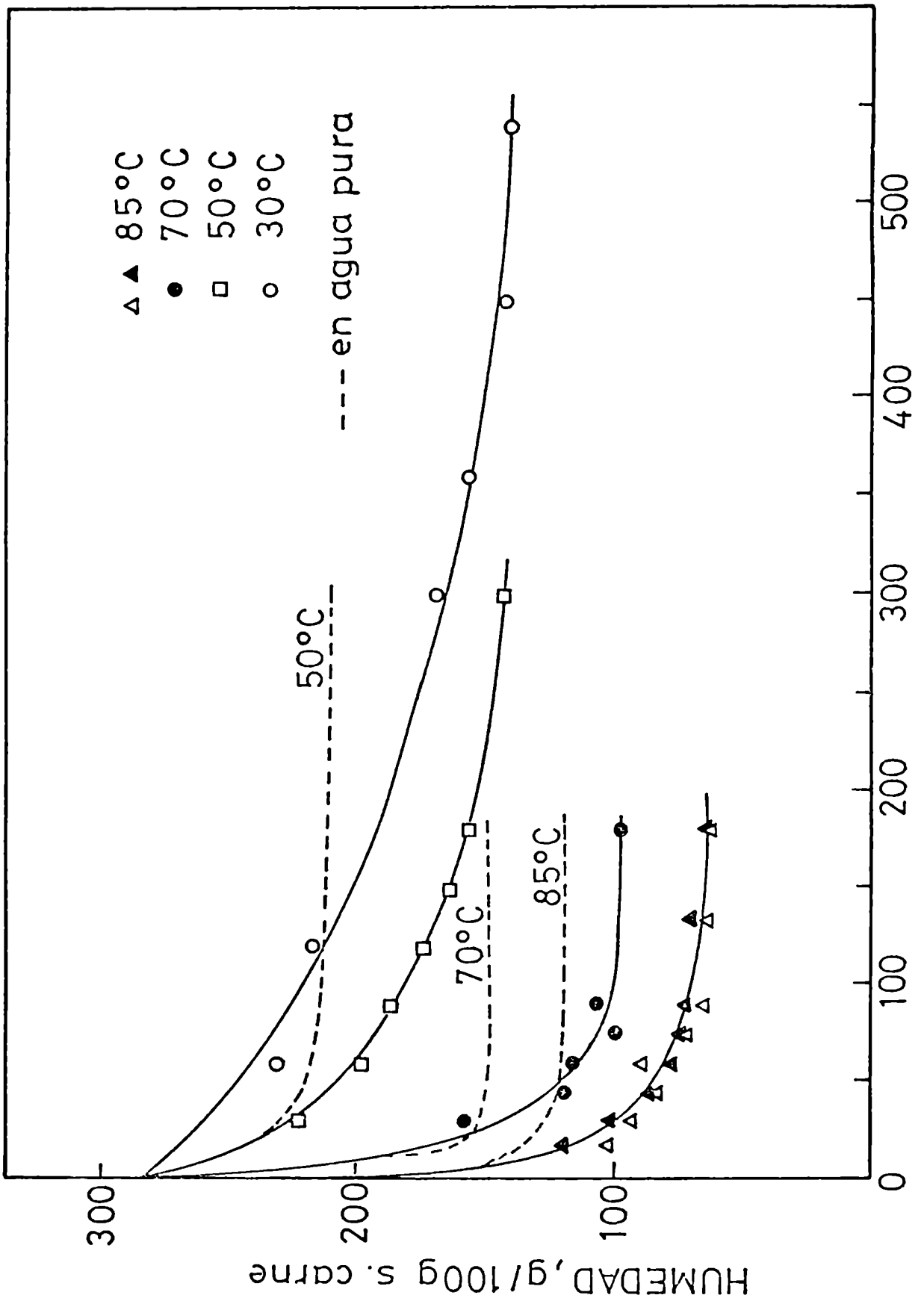


FIGURA 8 :Efecto de la temperatura sobre la pérdida de agua, en agua pura y en solución de baja a_w .

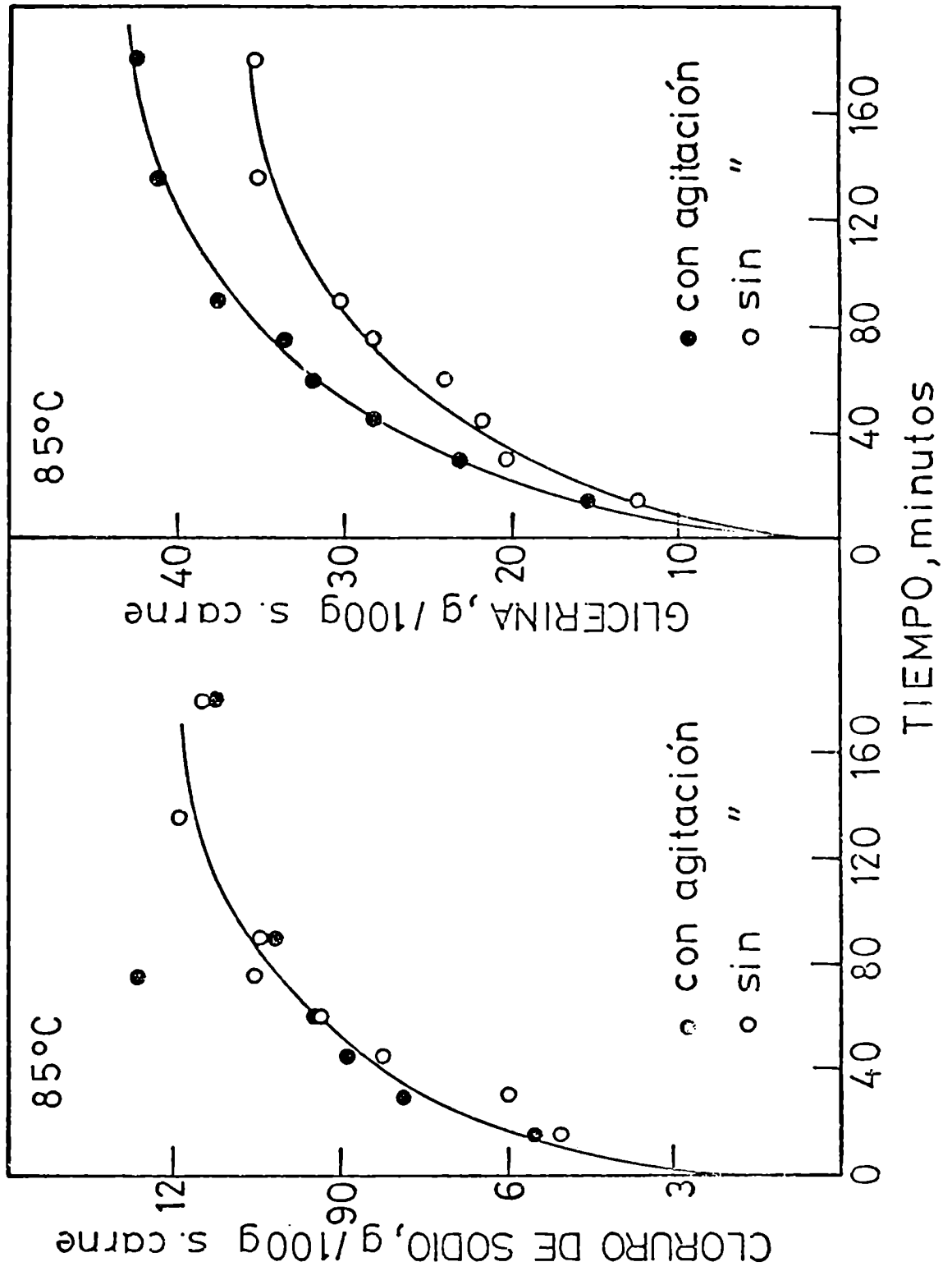


FIGURA 9 : Efecto de la agitación sobre la entrada neta de solutos.

Este análisis difusional simple, no es en sí mismo suficiente cuando la desnaturalización de proteínas y la concomitante pérdida de agua acompañan la entrada de los solutos. De cualquier manera, la penetración de sal y glicerina, en la carne, puede ser tentativamente descripta por la ley de Fick para difusión en estado no estacionario, utilizándola al menos como una herramienta matemática sin por ello querer significar que es una descripción exacta del fenómeno físico que está ocurriendo. Cuando un soluto se absorbe en una placa de material, semejante a las muestras de carne utilizadas, el proceso puede ser considerado aproximadamente como unidimensional si la relación espesor de la placa/lado de la placa es cercano a 0,1 o menor (Vaccarezza et al. 1974). Por razones prácticas esta relación fue muy difícil de alcanzar con las placas de carne (la relación fue de 0,16) y puede ser considerado aproximadamente como unidimensional. La ecuación que gobierna la difusión en una di mensión es,

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \cdot \frac{\partial C}{\partial x} \right)$$

donde C es la concentración al tiempo t y coordenada x y D es el coeficiente de difusión. Si el coeficiente de difusión es constante (Zugarramurdi and Lupín 1977, Fox Jr. 1980, Guerts et al. 1974) la ecuación a resolver es:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (1)$$

Se demostró (Crank, 1956) que para un determinado período en el es-

tado inicial de absorción, la solución de la ecuación (1) para una solución bien agitada, puede ser expresada por:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 2 \cdot \left(\frac{D \cdot t}{\pi l^2} \right)^{1/2} \quad (2)$$

donde M_t es la cantidad absorbida al tiempo t , M_∞ la cantidad absorbida después de un tiempo infinito y l es el semiespesor de la placa. La aplicabilidad de esta forma extremadamente simple, para períodos iniciales de absorción, permite determinar D a partir de un gráfico de $\frac{M_t}{M_\infty}$ versus $t^{1/2}$. A tiempos posteriores la pendiente de este gráfico disminuye hasta que se alcanza el equilibrio. Crank, 1956, demuestra matemáticamente que para períodos iniciales de absorción M_t todavía es proporcional a $t^{1/2}$ para sistemas donde D es solamente una función de la concentración. El valor de D obtenido usando la ecuación 2 es por lo tanto un valor promedio para el rango de concentraciones experimentadas en el proceso de difusión.

La alta relación de peso entre la solución y las placas de carne limita los cambios de concentración en la solución externa, condición que se requiere para resolver la ecuación 1 como se hizo aquí.

Las figuras 10, 11, 12 y 13 muestran la aplicación de la ecuación 2 para la entrada simultánea de cloruro de sodio y glicerina hacia la placa de carne a 30, 50, 70 y 85°C. Se puede observar que la ley de $t^{1/2}$ solo puede ser aplicada satisfactoriamente a los datos de 30°C y con alguna dificultad a los datos de 50°C. A las temperaturas más altas (70 y 85°C) los datos se desvían de la linealidad dando un carácter aparentemente sigmoideo.

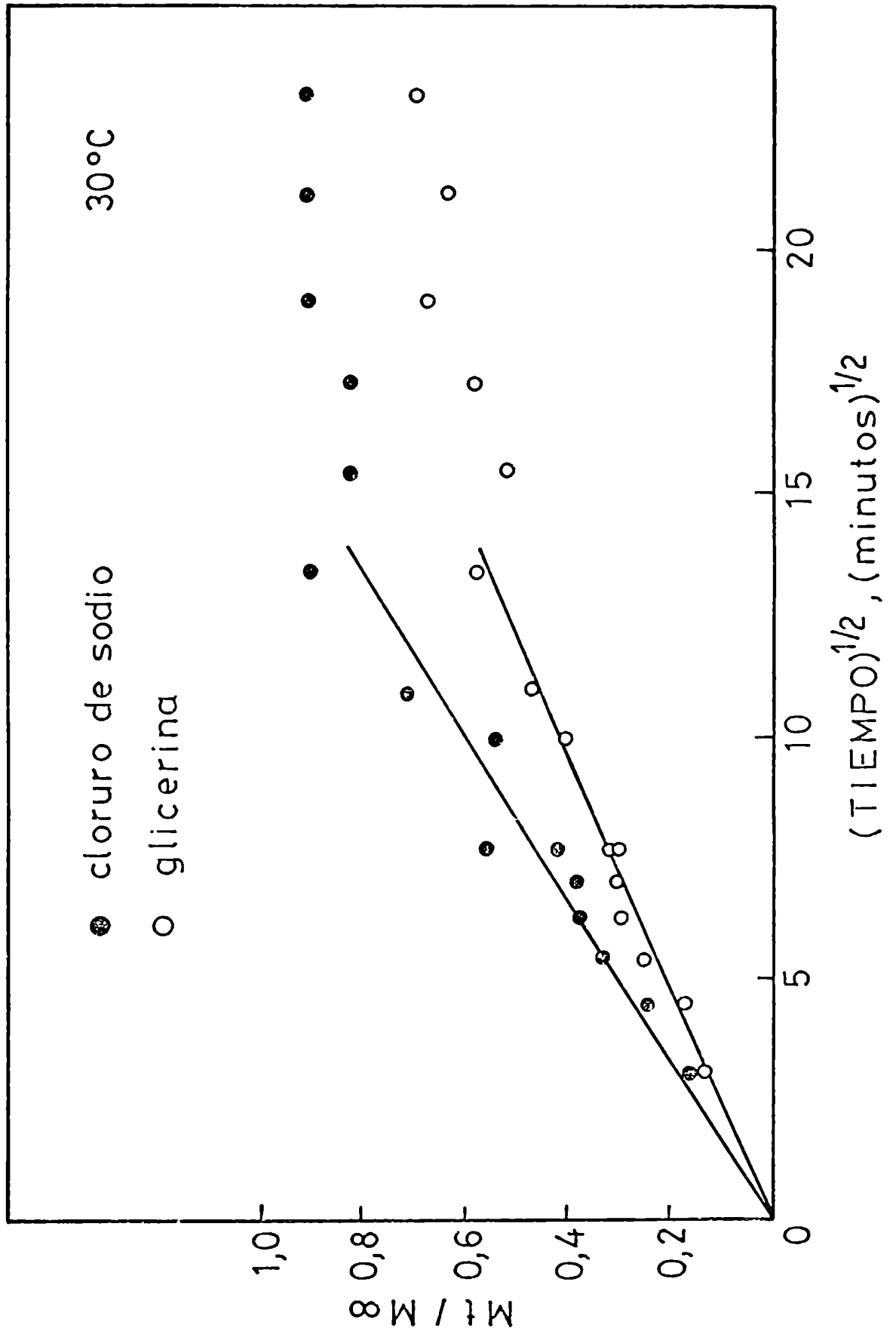


FIGURA 10 :Evolución del contenido de solutos a 30°C.

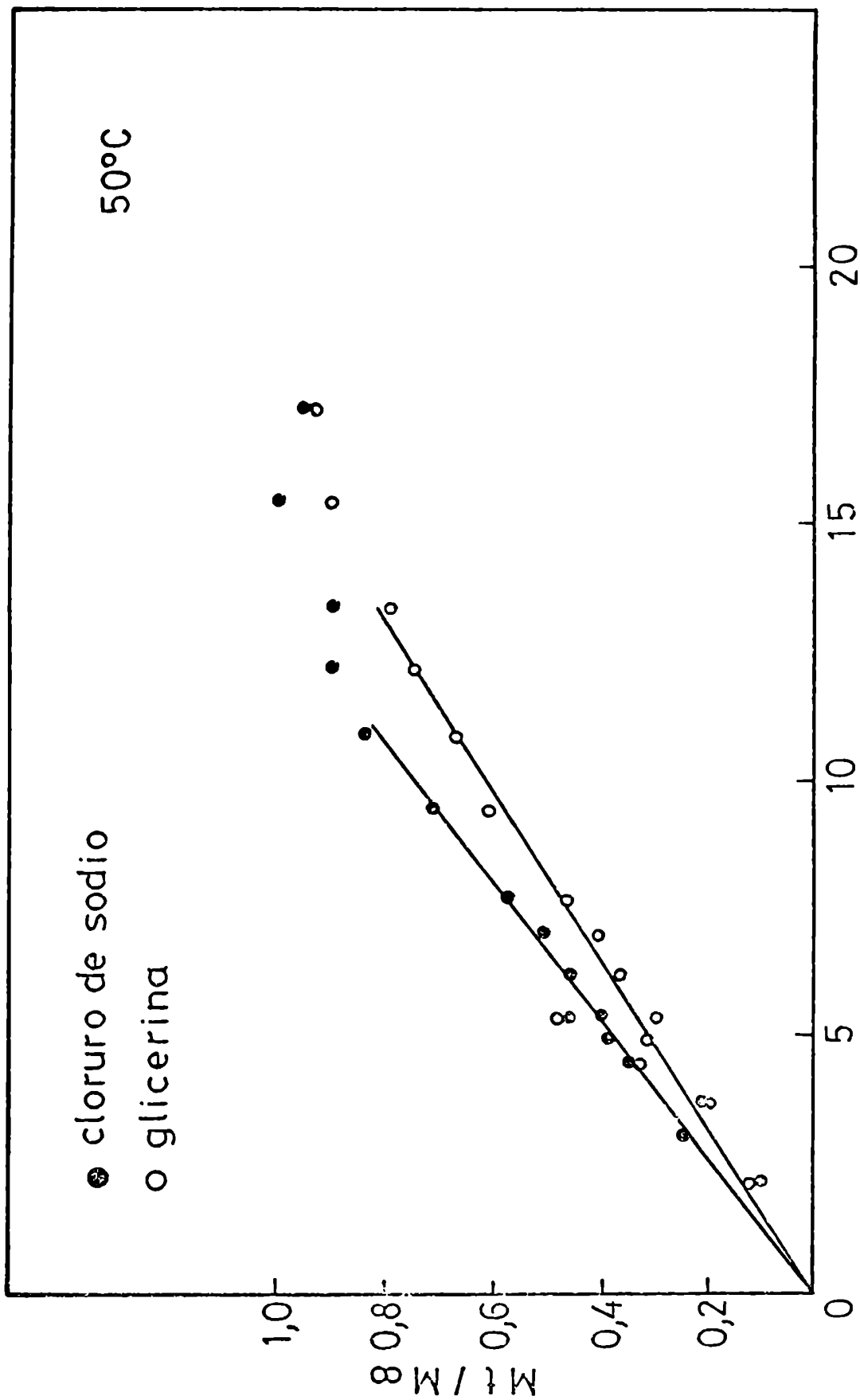


FIGURA 11 : Evolución del contenido de solutos a 50°C.

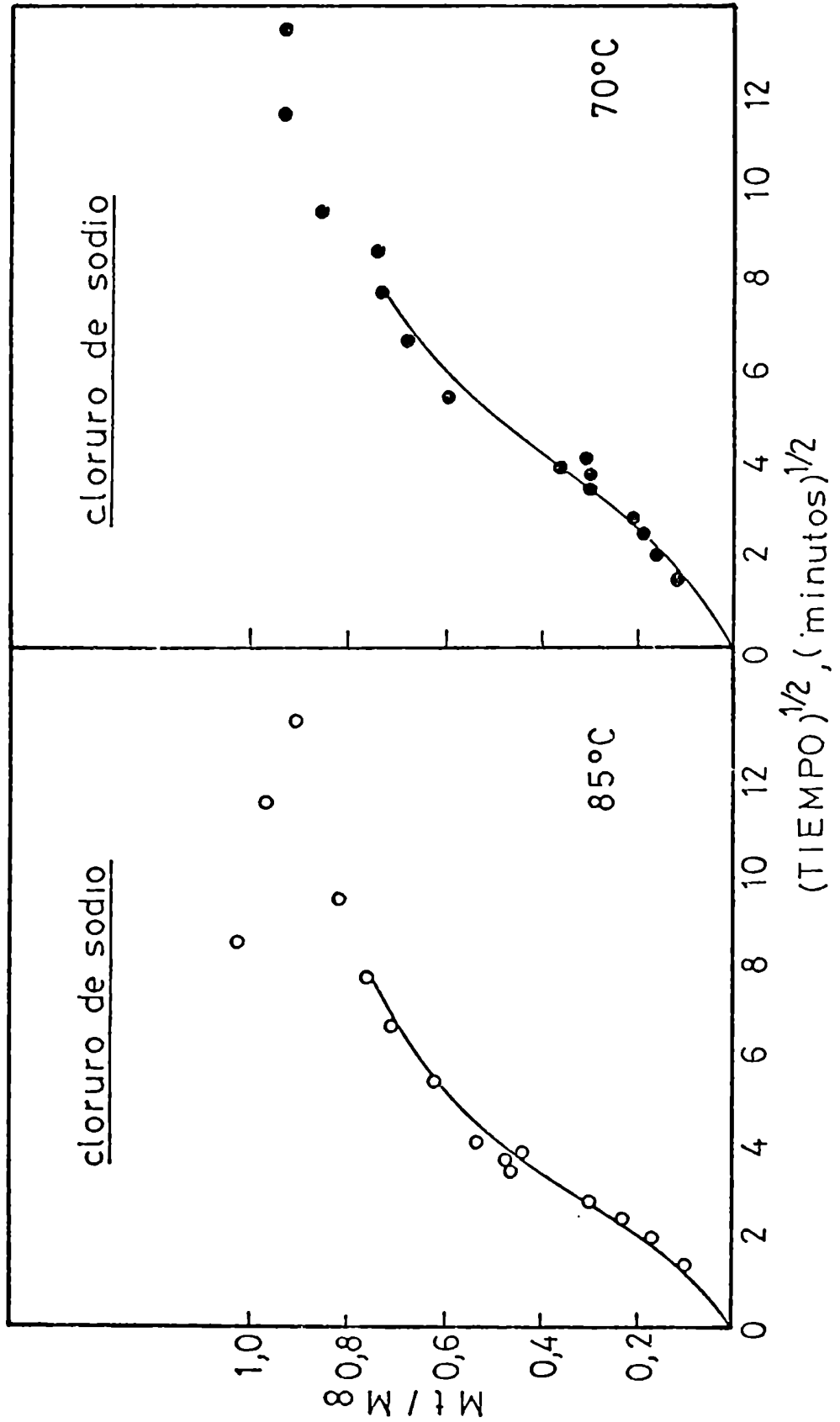


FIGURA 12 :Evolución de cloruro de sodio a 70 y 85°C.

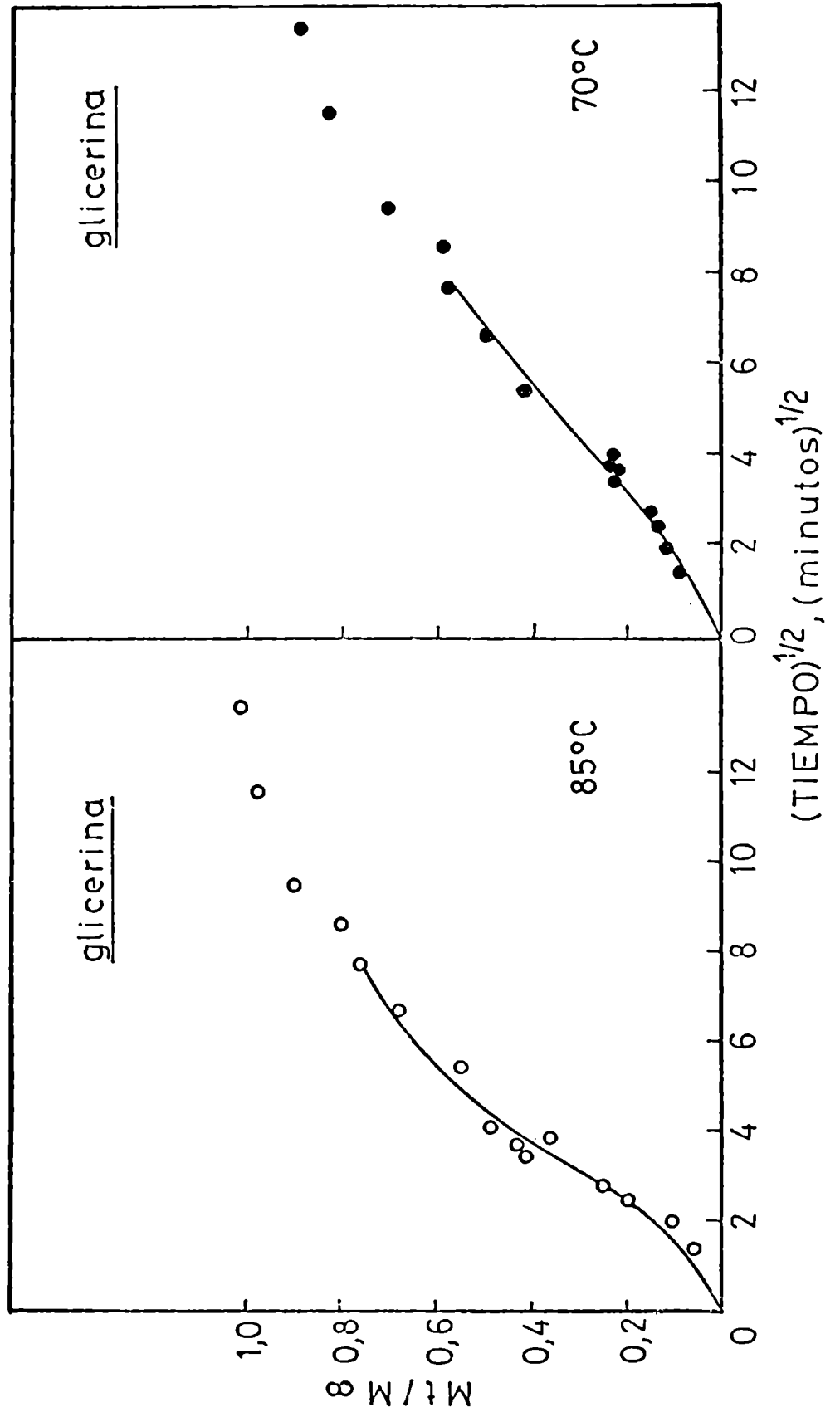


FIGURA 13 :Evolución de glicerina a 70 y 85°C.

Este comportamiento aparentemente "no - fickiano" se atribuyó a la desnaturalización de proteínas (con los cambios conformacionales respectivos) y a la simultánea pérdida de agua, la cual ocurre en el período inicial de la inmersión de la carne. Este comportamiento también puede ser atribuido al cambio en la temperatura de la muestra durante estos estados iniciales. Por ejemplo, ha sido calculado, sobre la base de ciertas suposiciones (constancia de densidad y conductividad térmica de la carne) que cada muestra de carne tarda 9 minutos en alcanzar el equilibrio térmico con un baño a una temperatura de 85°C.

De las líneas rectas que se muestran en la figura 10, un valor de coeficiente de difusión medio, en el rango inicial a 30°C, se obtuvo tanto para ClNa como para glicerina.

La tabla 8 compara los valores de difusividad para ClNa y glicerina con los datos de difusión sacados de literatura, para otros alimentos y sistemas modelos. Debemos hacer notar que los valores reportados en este trabajo fueron obtenidos de la entrada simultánea de ClNa y glicerina. A pesar de ello estos valores son comparables con los obtenidos por otros autores.

Los datos de coeficiente de difusión para ClNa y glicerina a 30 y 50°C fueron usados tentativamente para estimar un valor de energía de activación para el proceso difusional en la carne,

$$D = D_0 \cdot e^{-E_a / RT} \quad (3)$$

donde E_a es la energía de activación, R es la constante de los gases ideales

Tabla 8: Datos de coeficientes de difusión para cloruro de sodio y glicerina en carne y sistemas modelo

<u>Soluto</u>	<u>Sistema</u>	<u>Temperatura</u> (°C)	<u>D x 10⁵</u> <u>cm²/sec</u>	<u>Referencia</u>
cloruro de sodio	agua	25	1,48-1,6 ^(a)	Robinson and Stokes (1955)
cloruro de sodio	carne	30	0,94 ^(b)	este trabajo
cloruro de sodio	músculo de pescado	25	0,95-1,45 ^(a)	Del Valle and Nickerson (1967, b)
cloruro de sodio	picles	21,1	0,84-1,19 ^(c)	Pflug et al. (1967)
glicerina	agua	25	0,94	Brown and Chitumbo (1975)
glicerina	carne	30	0,47 ^(b)	este trabajo
glicerina	gel de celulosa	25	0,24	Brown and Chitumbo (1975)

(a) dependientes de la concentración.

(b) coeficientes de difusión medio en el estado inicial.

(c) valores para desalado.

y T es la temperatura absoluta. Asumiendo que la ecuación (3) se puede aplicar, la energía de activación de ClNa y glicerina en la carne era calculada y dió aproximadamente 4,4 y 7,2 kcal/mol respectivamente. A pesar de las limitaciones de los cálculos anteriores, el valor para ClNa se compara muy bien con el de 4,7 kcal/mol reportado por Del Valle y Nickerson (1967, b) para la difusión de ClNa en pescado.

Como se esperaba, en virtud de su mayor tamaño molecular, la energía de activación para la difusión de la glicerina era significativamente más grande que la de ClNa. Brown y Chitumbo (1975) reportan una energía de activación de 7,6 kcal/mol para la difusión de glucosa en un gel de agua-celulosa, la cual se puede comparar con la de glicerina obtenida en este trabajo debido a la similitud de tamaños moleculares.

IV.d - Transporte de masa en términos de "molalidad" en la carne:

Los datos de transporte de masa en términos de "molalidad" en la carne pueden ser manejadas adecuadamente de acuerdo a las técnicas standard usadas para obtener los coeficientes de difusión asumiendo difusión fickiana en estado no estacionario. Para este análisis definiremos la concentración "molal" de cada soluto de la siguiente manera:

$$\frac{\text{moles de soluto}}{1000 \text{ g de agua en el tejido muscular}}$$

Se encontró que la molalidad en la carne (tanto para ClNa como para glicerina) a diferentes tiempos de inmersión puede ser correlacionado usando una simple expresión derivada del análisis fickiano de los datos:

$$m_{\text{ClNa o glicerina}} = k \cdot t^{1/2} \quad (4)$$

donde m es la concentración molal en el agua del tejido muscular y k es un coeficiente "global" de transporte de masa el cual refleja la velocidad de incremento de molalidad como un resultado de ambos, entrada de soluto y remoción de agua (difusión y coacción).

Se observó que esta simple expresión fue útil para correlacionar la mayoría de los datos de molalidad en el período de tiempo investigado y no solamente en los estados iniciales como ocurre cuando se analiza la difusión controlada por la entrada neta de solutos. Se observaron algunas desviaciones de la ecuación (4), a tiempos de inmersión cortos (por debajo de 20 minutos) para las corridas de altas temperaturas.

La figura 14 y 15 muestran el grado de aplicabilidad de la ecuación (4) para los datos experimentales a todas las temperaturas estudiadas y para la mayor parte de los tiempos de inmersión que nos interesan. Se ve que después de unos pocos minutos iniciales (datos no graficados) se pueden trazar líneas rectas las cuales permiten la evaluación de k , el coeficiente global de transferencia de masa, que puede ser usado directamente para predecir la actividad de agua.

El efecto de la temperatura sobre el coeficiente global de transferencia de masa puede ser expresado de acuerdo a una ecuación del tipo Arrhenius, como se muestra en la figura 16. Las expresiones obtenidas como resultado de ésto son las siguientes:

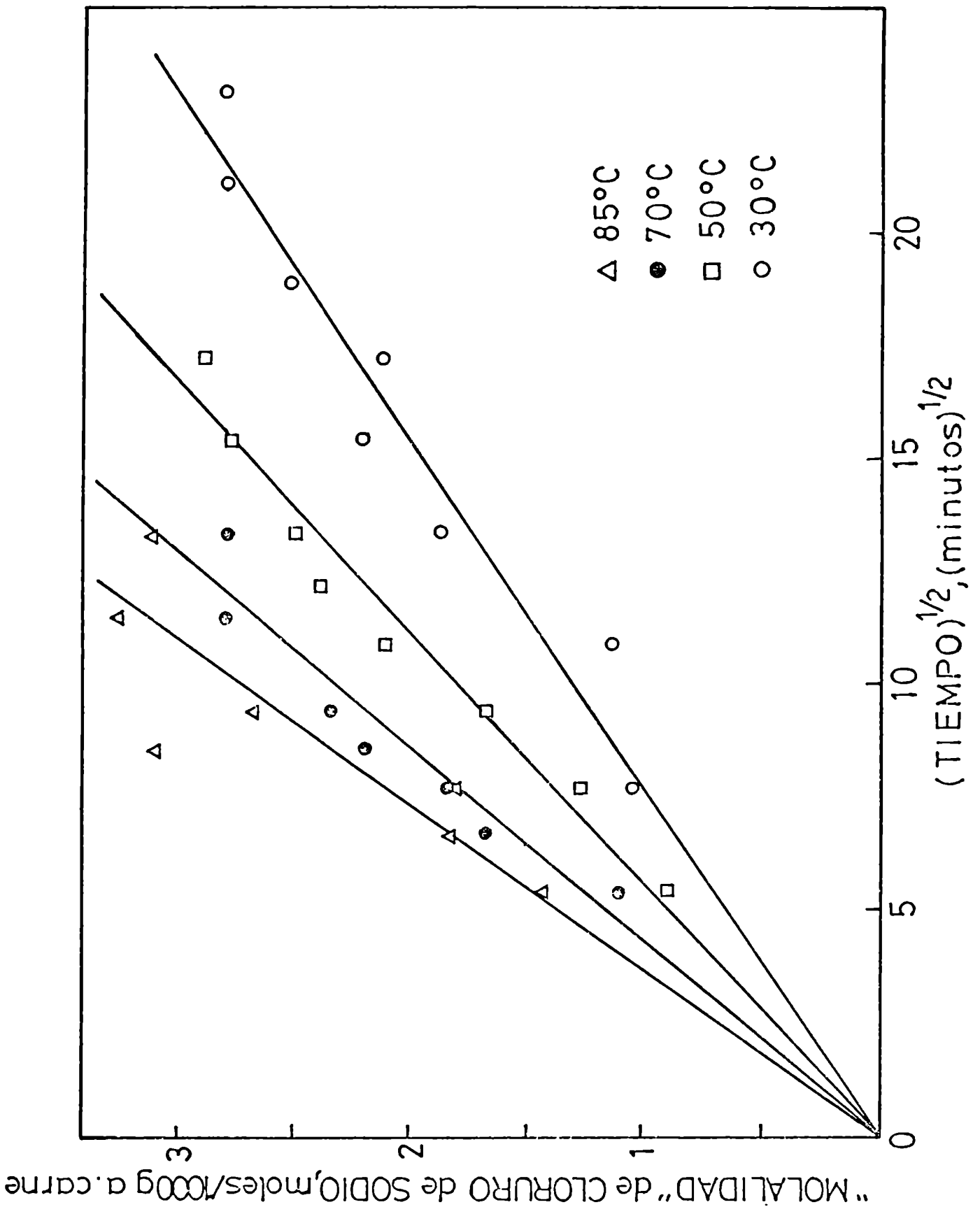


FIGURA 14 :Efecto de la temperatura sobre la "molalidad" de cloruro de sodio en función del tiempo.

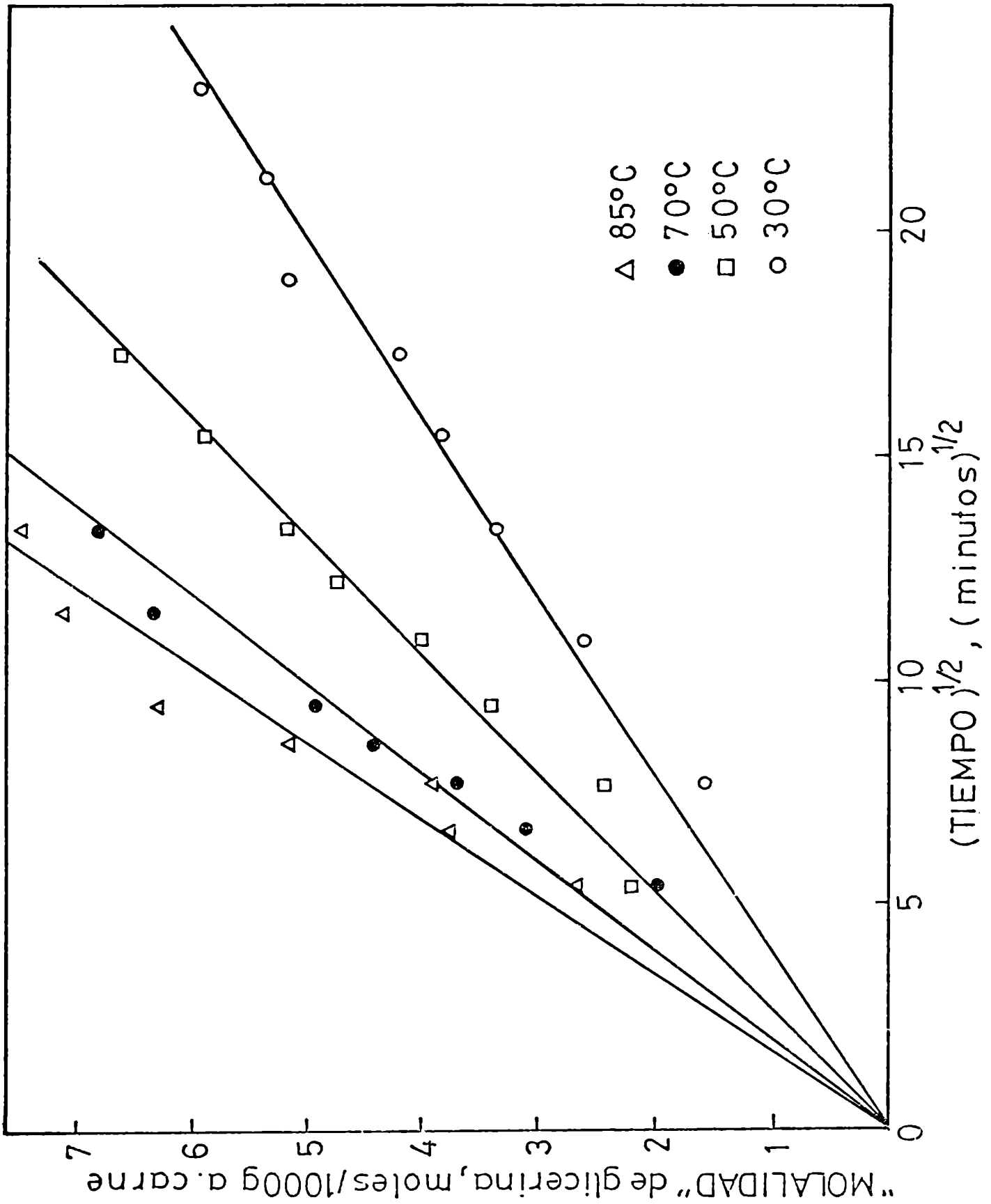


FIGURA 15 :Efecto de la temperatura sobre la "molalidad" de glicerina en función del tiempo.

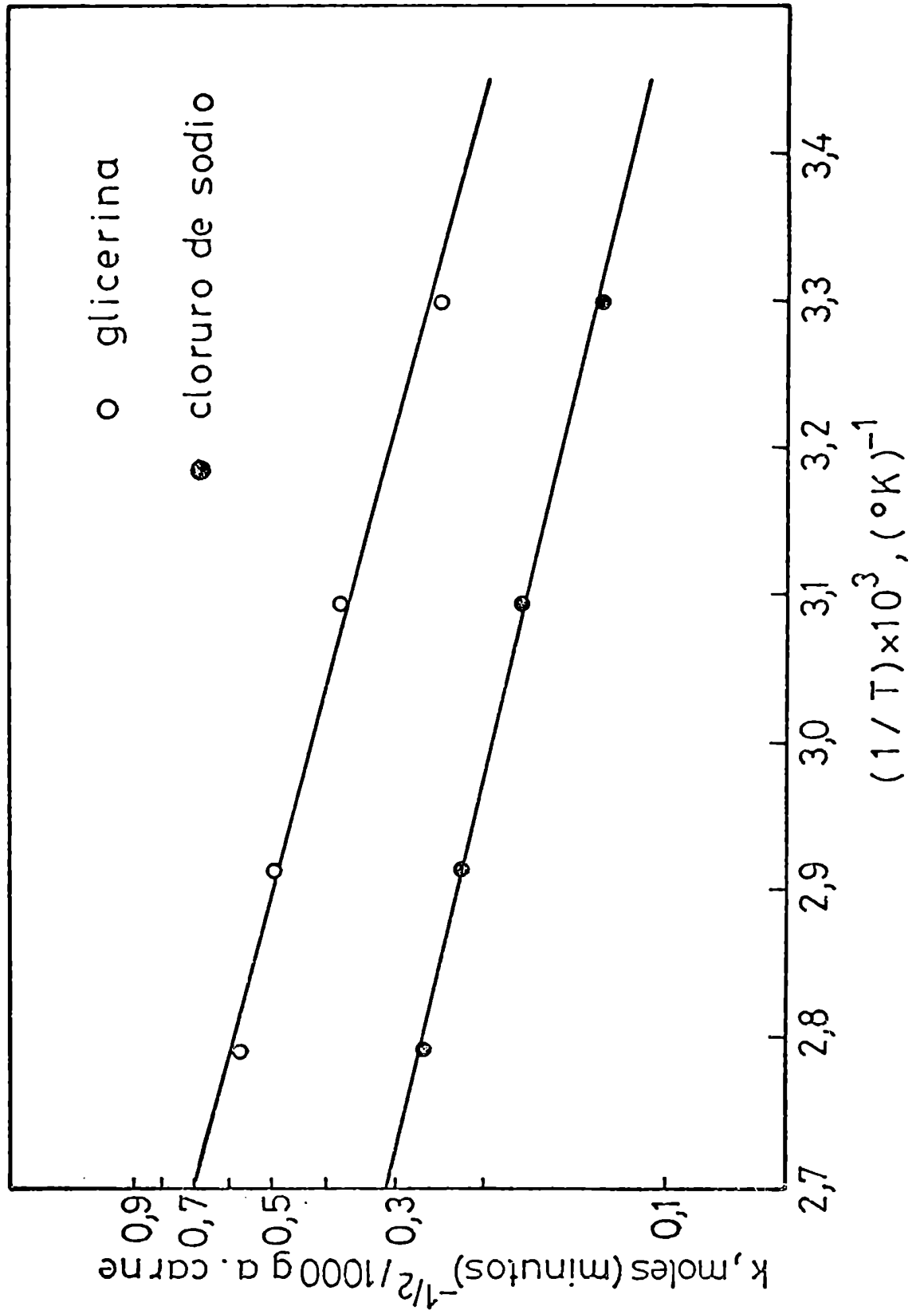


FIGURA 16 :Efecto de la temperatura sobre el coeficiente global de tranferencia de masa.

$$k_{\text{ClNa}} = 15,4 \cdot e^{-1449/T}$$

$$k_{\text{glic}} = 56,4 \cdot e^{-1635/T}$$

Aquí debemos aclarar que no se debe confundir la energía de activación de un proceso de difusión pura, con el valor de energía de activación aparente que deriva de las pendientes de las líneas rectas de las figuras 14 y 15. El efecto de la temperatura sobre el coeficiente empírico meramente refleja una suma de efectos independientes. Entre ellos pueden ser nombrados los siguientes: a) efecto sobre la velocidad específica de la difusión de los solutos, b) efecto sobre la remoción de agua (efecto difusional y de cocción) y c) cambios conformacionales en la carne que afectan las velocidades específicas de difusión.

IV.e - Efecto del espesor:

Los gráficos de concentración de solutos versus $t^{1/2}$ dan rectas, a igualdad de temperatura de trabajo, la pendiente de estas rectas depende del espesor inicial de la muestra a ser deshidratada. Con el objeto de cuantificar esa funcionalidad se realizaron corridas a 65°C y a 30°C a los siguientes espesores: 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; y 1,1 cm.

Las pendientes de dichas rectas se representaron en coordenadas doble logarítmicas en función del espesor inicial de las muestras. La figura 17 muestra la correlación obtenida. Suponiendo una dependencia potencial del tipo $k \propto l^{-n}$ por regresión se obtuvieron los resultados de la tabla 9.

Teóricamente, si consideramos la ley de Fick, para la placa plana

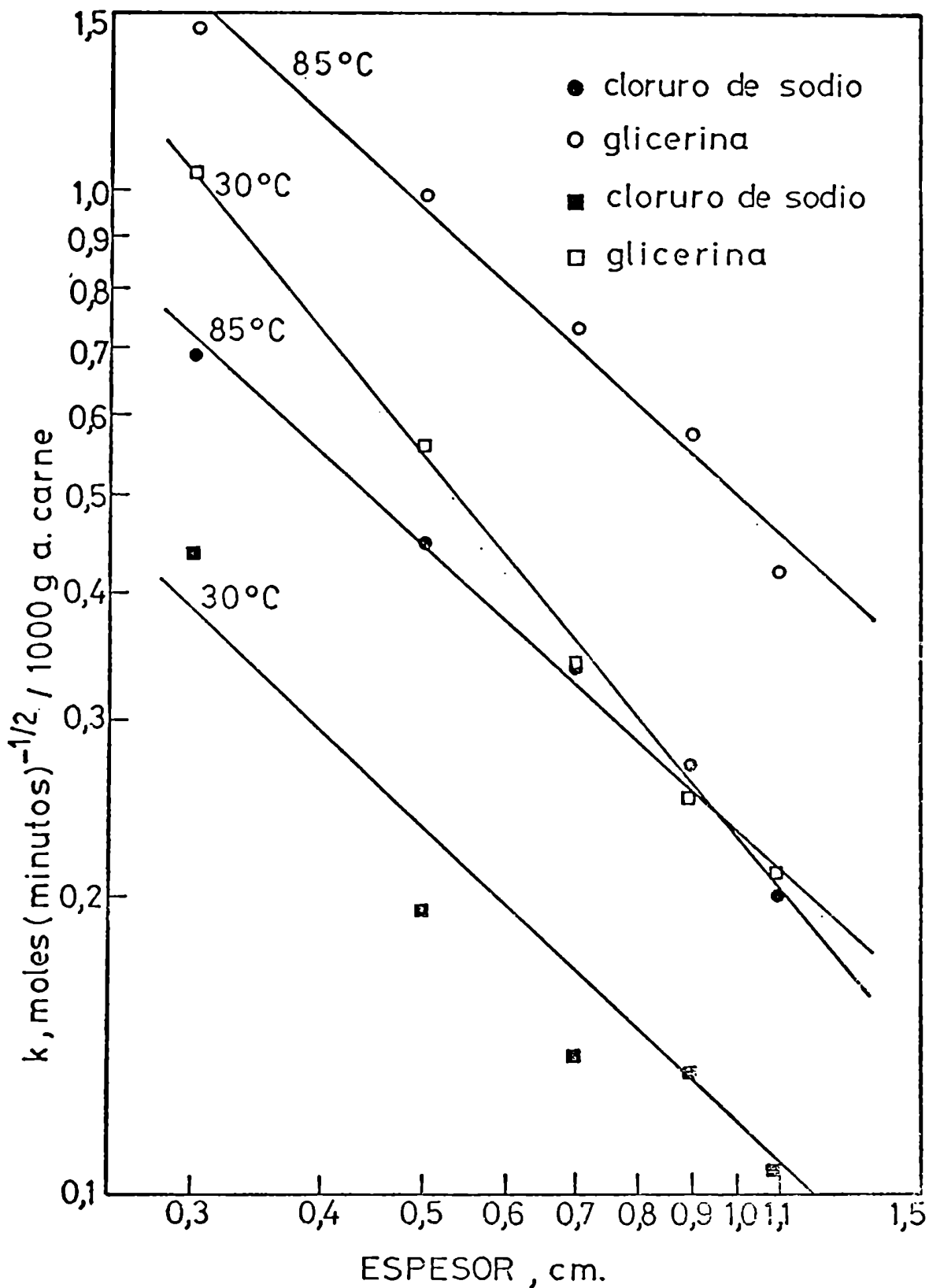


FIGURA 17 :Efecto del espesor sobre el coeficiente global de transferencia a distintas temperaturas y para ambos solutos.

Tabla 9: Valores del exponente "n" definido por $k \propto l^{-n}$, a distintas temperaturas, tanto para cloruro de sodio como para glicerina.

TEMPERATURA (°C)	EXPONENTE "n"	SOLUTO
30	1,0483	cloruro de sodio
85	0,9228	
30	1,2613	glicerina
85	0,9283	

con coeficiente de difusión constante y para períodos iniciales de tiempo tendremos:

$$\frac{M_t}{M_{\infty}} = 4 \left(\frac{D t}{\pi l^2} \right)^{1/2}$$

por lo tanto,

$$M_t = k t^{1/2}$$

donde

$$k = 4 M_{\infty} D^{1/2} / \pi^{1/2} l$$

luego,

$$k \propto l^{-1}$$

El hecho de que los valores obtenidos difieran en algo del valor teórico ($n = 1$) se puede deber a: el no estricto cumplimiento de la ley de Fick principalmente, y también a los errores experimentales involucrados.

En la figura 18 se muestran los datos de molalidad para las placas de distintos espesores, correlacionados adecuadamente si se grafica molalidad versus $t^{1/2}/l$, este comportamiento sigue el modelo teórico de difusión fickiana considerado antes.

IV.f - Efecto de los pretratamientos

IV.f.1 - Efecto de la velocidad de congelado previo a la deshidratación:

El efecto del congelado sobre la penetración de cloruro de sodio en músculo de pescado, en soluciones salinas de 25% de concentración fue demostrado por J.C. Deng (1977). Este autor observó un incremento en la velocidad de penetración de sal en el músculo de pescado que fue congelado durante una

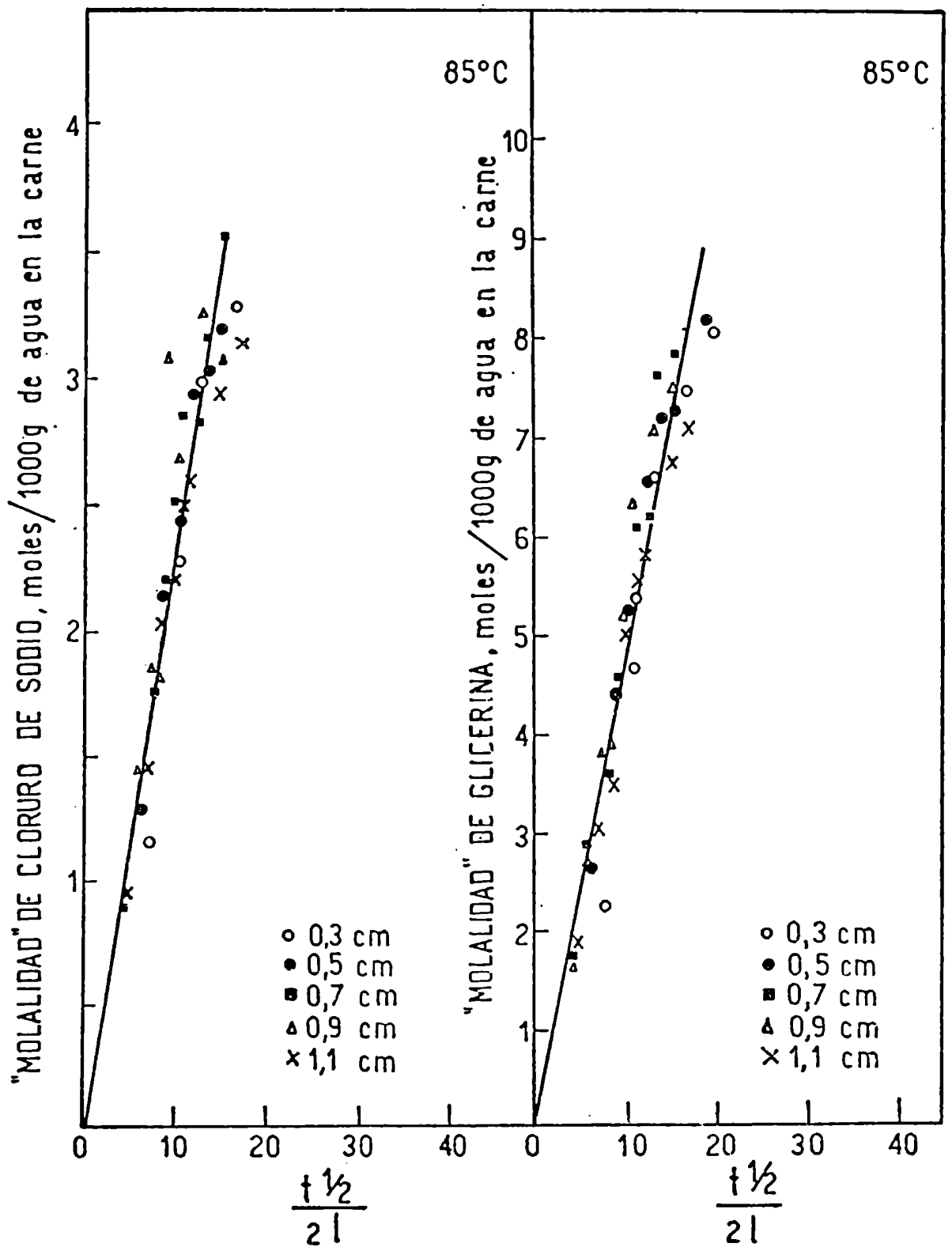


FIGURA 18 : "Molalidad" de cloruro de sodio y glicerina para distintos espesores, correlacionados según la ley de Fick.

semana y luego descongelado, comparándolo en el músculo de pescado fresco, ambos sumergidos en la solución salina. En este artículo se atribuye este incremento en la velocidad de penetración al daño causado sobre la pared celular después del congelado.

En nuestro caso, dado que la carne es congelada en forma lenta (durante 15 horas a -20°C) y luego descongelada hasta su incipiente fusión, pueden ocurrir cambios estructurales a nivel celular por lo que uno podría preguntarse si estos cambios producidos por el congelado influyen o no en la velocidad de entrada de los solutos. Para ver el efecto de la velocidad del congelado previo a la deshidratación, se realizó una corrida considerada de velocidad de congelado rápido cuyas condiciones fueron: 45 minutos sumergida en un baño de hielo seco-acetona a una temperatura de -75°C .

El congelado y el almacenamiento congelado producen la desnaturalización y agregación de proteínas, además de la ruptura a nivel celular. Estas modificaciones son pequeñas cuando la congelación es rápida y la temperatura de almacenamiento es muy baja, pero resultan apreciables en los casos de congelación lenta y con almacenamiento a temperaturas altas. Esto se debe a que se forman en los tejidos grandes cristales de hielo, al aumento en la concentración de sales en los líquidos remanentes y a la acción deshidratante que estas sales ejercen por diferencias de a_w , sobre las células.

La principal consecuencia práctica de estos fenómenos es un descenso de la capacidad de retención de agua, que se manifiesta después de la descongelación por un exudado. Aunque este exudado contiene algunos aminoácidos, vitaminas, sales minerales, etc., la pérdida de valor nutritivo es pequeña y

en el caso de las placas de carne el exudado resulta mínimo, debido a que prácticamente no hay descongelado total y sí una inmediata inmersión en la solución de baja a_w .

Estos efectos se pueden cuantificar basándose en: la pérdida de agua por compresión, la disminución de la extractibilidad de la actomiosina con una solución de fuerza iónica conocida o la facilidad de dispersión del tejido por homogenización. Basado en la extracción de actomiosina, como indicador de la desnaturalización de proteínas, Deng (1977) comprobó que las curvas de velocidad de penetración de sal y de extractibilidad de actomiosina se correlacionaban con un factor de 0,99, por lo tanto, la desnaturalización es el factor más importante en la disminución de la velocidad de penetración de cloruro de sodio durante el almacenamiento congelado.

Esta desnaturalización conduce a una agregación resultando en un incremento del entrecruzamiento de las proteínas miofibrilares, lo cual reduce la penetración inicial. Pero por otro lado las interacciones proteína-proteína (Deng et al. 1976) intervienen disminuyendo la cantidad de sitios activos para la unión de agua y así causan una pérdida de líquido durante el descongelado. Este exudado disminuirá el contenido de agua e incrementará la concentración de sal en la fase acuosa del músculo por lo tanto disminuye la fuerza impulsora de a_w y puede ser parcialmente responsable de la disminución de la velocidad de penetración de sal.

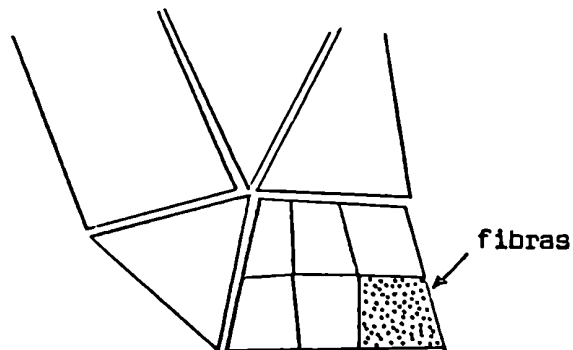
Como el almacenamiento de carne vacuna fue mínimo en todas las experiencias realizadas, entonces el efecto predominante sería una destrucción a nivel celular con un aumento en la velocidad de penetración de solutos.

Este efecto se puede comprobar en las figuras 19 y 20, tanto para cloruro de sodio como para glicerina. Esto significa que independientemente del tamaño molecular de los solutos (glicerina \gg cloruro de sodio) el daño en la pared celular es lo suficientemente grande como para que ambos solutos incrementen sus velocidades de entrada.

IV.f.2 - Efecto de la dirección de flujo en el transporte de solutos:

La unidad estructural esencial de todos los músculos es la fibra muscular. Las fibras musculares son células multinucleadas, estrechas y largas. Cada fibra muscular está compuesta por muchísimas miofibrillas paralelas, englobadas en un citoplasma llamado sarcoplasma que contiene núcleos y mitocondrias, así como sustancias solubles (ATP, creatina, mioglobina, glucógeno, enzimas glucolíticas, etc.).

El colágeno es el constituyente principal del tejido conjuntivo del músculo y es el que mantiene unidas a las fibras musculares. En un corte transversal del músculo se observa lo siguiente:



El hecho de que la carne sea un material no isotrópico como el des-

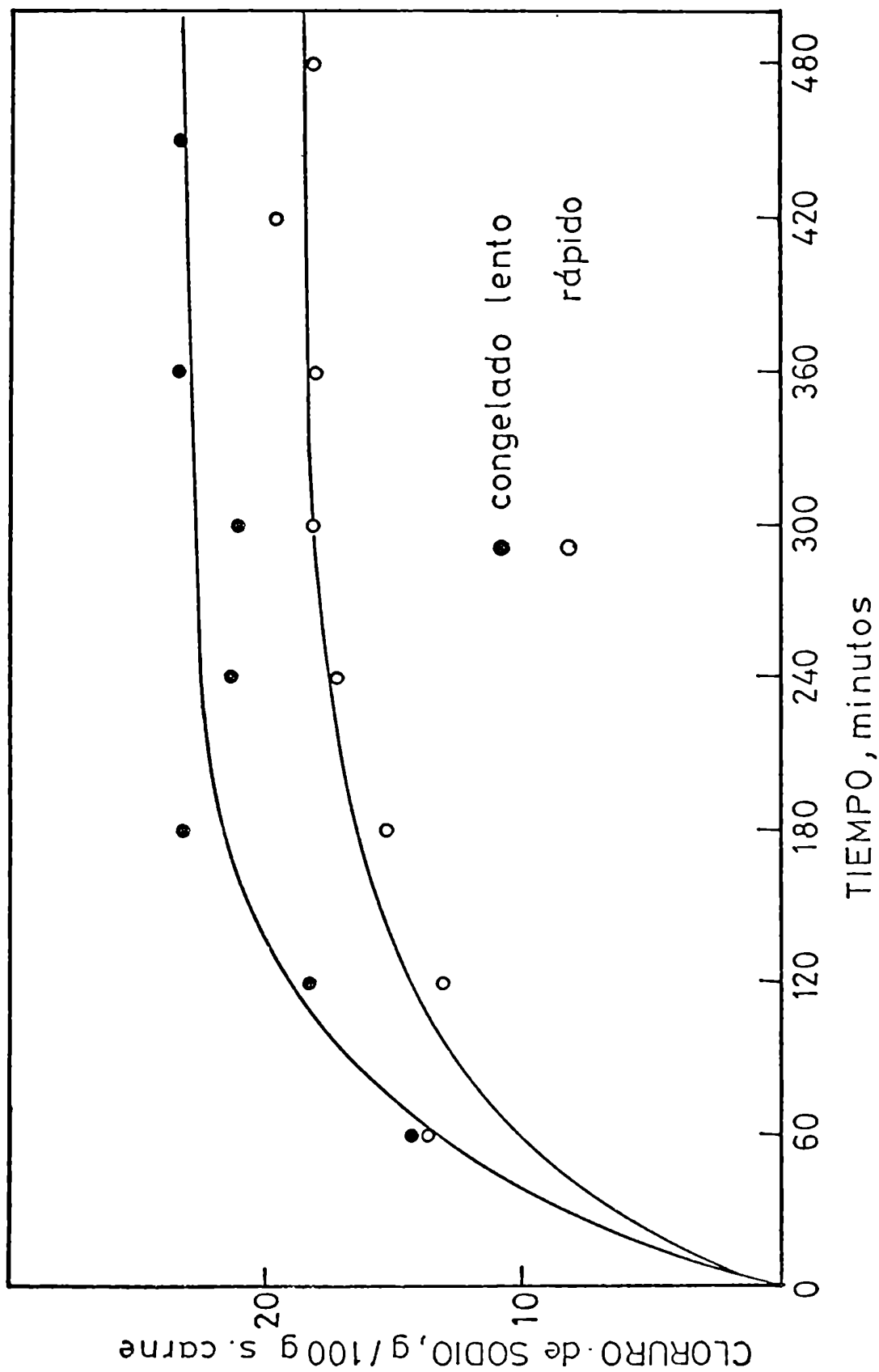


FIGURA 19 :Efecto de la velocidad del congelado sobre la entrada de cloruro de sodio.

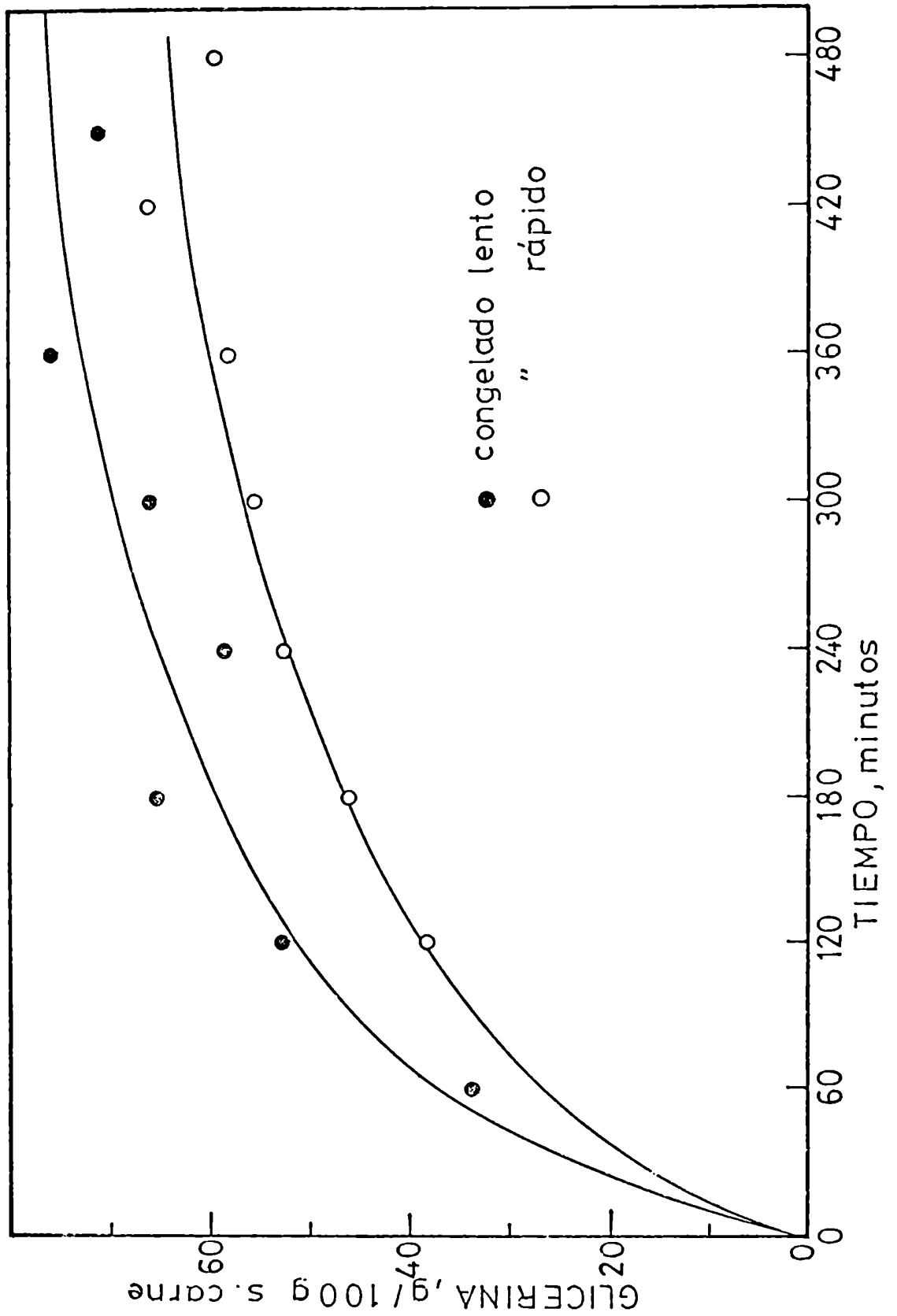


FIGURA 20 :Efecto de la velocidad del congelado sobre la entrada de glicerina.

cripto dá lugar a suponer una dirección preferencial en el transporte de solutos durante la deshidratación. Con el propósito de analizar esto, se cortaron placas de carne en dirección paralela a la fibra muscular y se realizó una corrida a 30^oC y 0,9 cm. de espesor.

Las figuras 21 y 22 muestra la comparación de ambos tipos de cortes tanto para cloruro de sodio como para glicerina. Aquí podemos ver, como se espera, que la velocidad de penetración de ambos solutos se incrementa si el corte es perpendicular a la fibra, debido a que por su constitución natural hay una menor resistencia a las respectivas transferencias.

IV.f.3 - Cuantificación del efecto de los diversos pretratamientos en términos de "molalidad" en la carne:

Con el objeto de cuantificar los resultados del efecto de diversos pretratamientos se expresaron todos los datos en términos de "molalidad" en la carne y utilizando las ecuaciones de transferencia global se calcularon los k molales correspondientes. Además, a los efectos de comparar, se hicieron corridas en las condiciones standard utilizando carne porcina (bondiola) y músculo de pescado (atún). Estas corridas fueron hechas con el objeto de ver en forma global las variaciones de la molalidad en función del tiempo en tres tipos diferentes de carne, estos resultados se incluyen dentro de los efectos de los pretratamientos y los valores de k molal obtenidos para las mismas aparecen en la tabla 10.

Podemos ver que los pretratamientos, en general, no tiene una influencia substancial sobre el valor del coeficiente global de transferencia

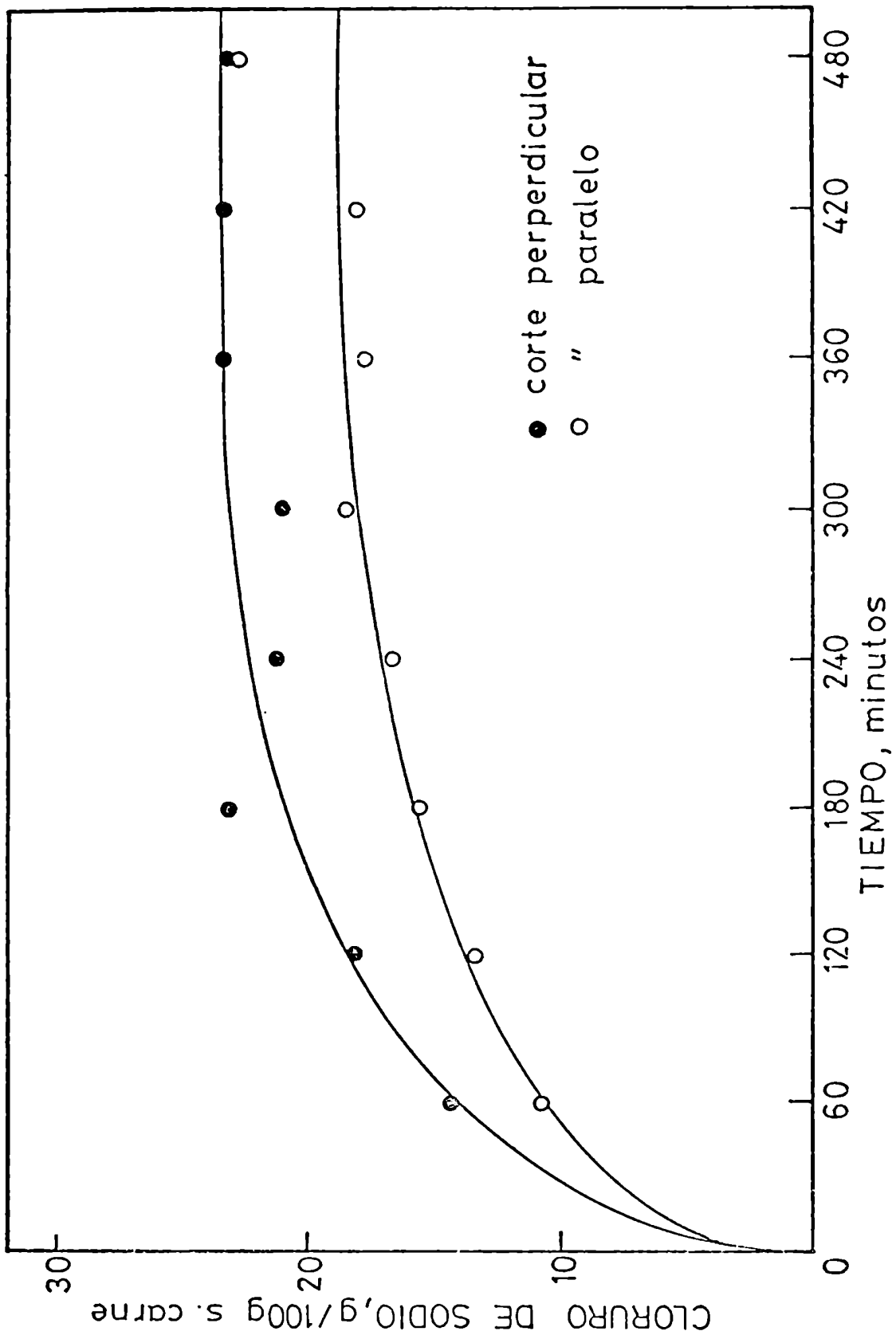


FIGURA 21 :Efecto del tipo de corte sobre la entrada de ClNa.

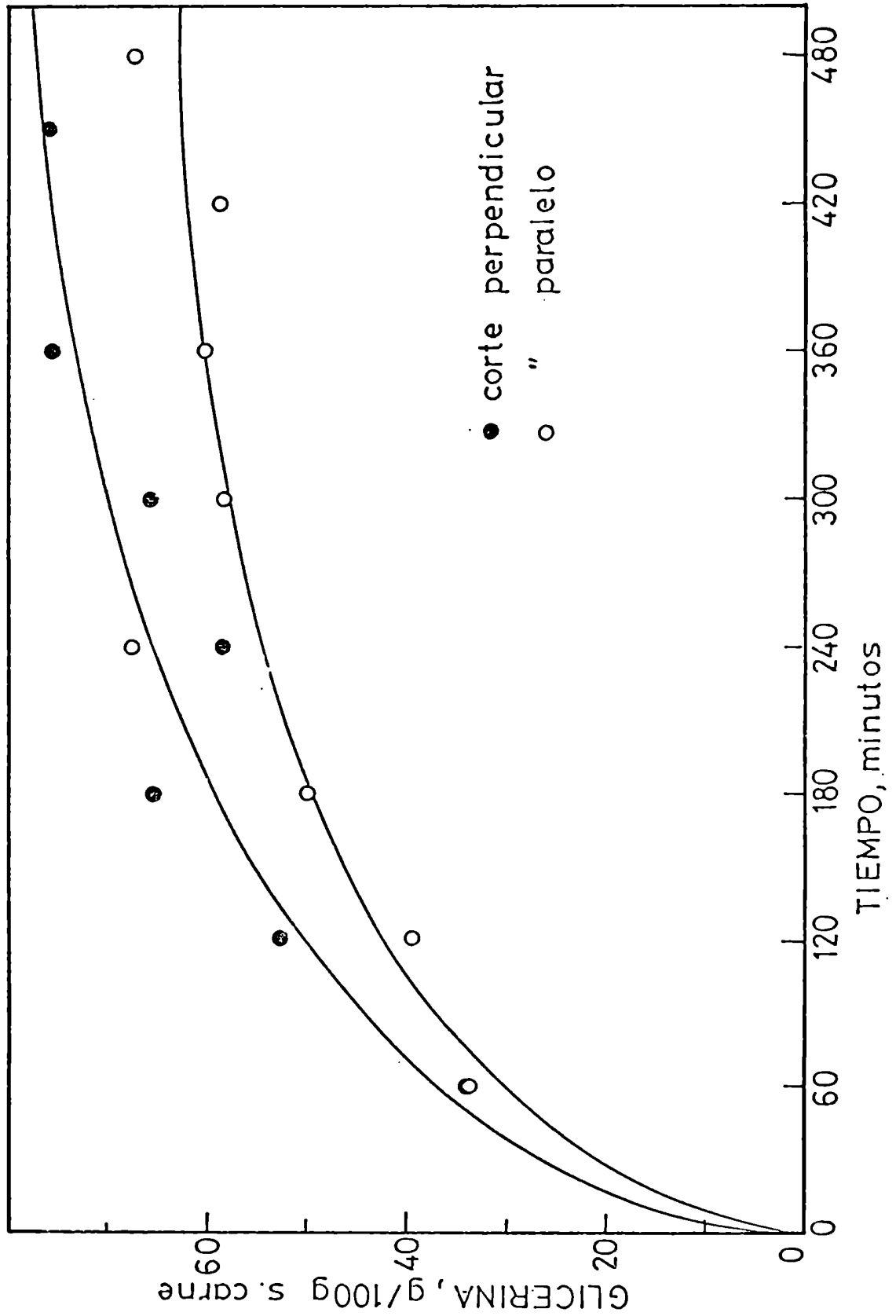


FIGURA 22 :Efecto del tipo de corte sobre la entrada de glicerina.

Tabla 10: Efecto de los varios pretratamientos y del tipo de carne sobre el coeficiente global de transferencia de masa (k) para cloruro de sodio y glicerina en carnes inmersas en una solución de a_w especificada a 30°C.

	k_{ClNa}	$k_{glic.}$
	$\left(\frac{\text{moles ClNa}}{1000 \text{ g agua}} \text{ min}^{-1/2} \right)$	$\left(\frac{\text{moles glic.}}{1000 \text{ g agua}} \text{ min}^{-1/2} \right)$
Carne vacuna, congelado lento, \perp	0,130	0,253
Carne vacuna, congelado lento, \equiv	0,124	0,258
Carne vacuna, congelado rápido, \perp	0,130	0,262
Carne vacuna, congelado lento, \perp pH disminuído	0,137	0,280
Carne porcina, congelado lento, \perp	0,130	0,253
Atún, congelado lento, \perp	0,136	0,289

\perp : flujo perpendicular a las fibras de proteínas

\equiv : flujo paralelo a las fibras de proteínas

de materia, considerando que las desviaciones máximas respecto del standard son del 10%. Si consideramos el tipo de carne, en el caso del atún el proceso se ve favorecido comparándolo con los demás debido a su estructura muscular menos compacta.

IV.f.4 - Efecto de la cocción:

La capacidad de retención de agua de la carne es muy importante como propiedad, ya que influye en el aspecto de la carne antes de la cocción, en su comportamiento durante el proceso de cocción y en la sensación de jugosidad que produce durante la masticación. La disminución de la capacidad de retener agua se manifiesta por la exudación de un líquido denominado "weep" cuando proviene de carne no cocida ni congelada, "drip" cuando procede de carne descongelada y "shrink" cuando procede de la carne cocida.

Hasta el 5% del agua total del músculo (4% en peso húmedo) se halla directamente unida a los grupos hidrófilos de las proteínas. Esta cantidad de agua apenas sufre modificaciones cuando cambia la estructura y la carga eléctrica de las proteínas (Hamm, 1960). Casi todos los cambios que se observan en la capacidad de retención de agua en las proteínas se deben a las modificaciones que experimenta la llamada agua "libre" que se halla inmovilizada por la configuración física de las proteínas, sin hallarse unida a ellas.

Las pérdidas debidas a la retracción que experimenta la carne durante el proceso de cocción son mayores no obstante, debido a que las temperaturas elevadas a que se somete determinan la desnaturalización de las proteínas y disminuyen considerablemente su capacidad de retención de agua (Baker, 1942;

Wierbicki, et al., 1954; Paul and Bratzler, 1955). Dichas pérdidas dependen de factores como el método, el tiempo y la temperatura de cocción. Este último factor es el más importante desde el punto de vista de sus efectos sobre las proteínas:

- A partir de 50°C se desnaturalizan las proteínas plasmáticas y sarcoplasmáticas (desplegamiento de las α -hélices) y se ligan en parte, por enlaces hidrógeno o iónicos. Hay agregación y a veces coagulación.

- A partir de 63°C, el colágeno solubiliza parcialmente por destrucción de los enlaces hidrógeno entre las cadenas proteicas.

- La elastina se hincha pero debido a su configuración se modifica poco.

- La actomiosina se hace más firme y menos soluble.

Con el objeto de comprobar la importancia de esta desnaturalización en la deshidratación de carne vacuna en soluciones de baja actividad se realizaron corridas utilizando como alimento a deshidratar carne ya precocida: las condiciones de esta cocción fueron de 45' a 85°C. El tratamiento de la muestra fue el mismo que el realizado en carne cruda, así se determinó ClNa y glicerina durante el tiempo de inmersión de carne precocida.

Las figuras 23 y 24 muestran la cinética de entrada de ClNa y glicerina para carne cruda y para carne precocida y luego deshidratada a cuatro temperaturas (25, 70, 50 y 30°C). Aquí podemos ver que expresando las concentraciones en base constante (g/g sólidos de carne) obtenemos una irregularidad en la secuencia de velocidades de entrada tanto para ClNa como para glicerina a 70 y 25°C respecto de las de 50 y 30°C para el caso de carne cruda. Debido

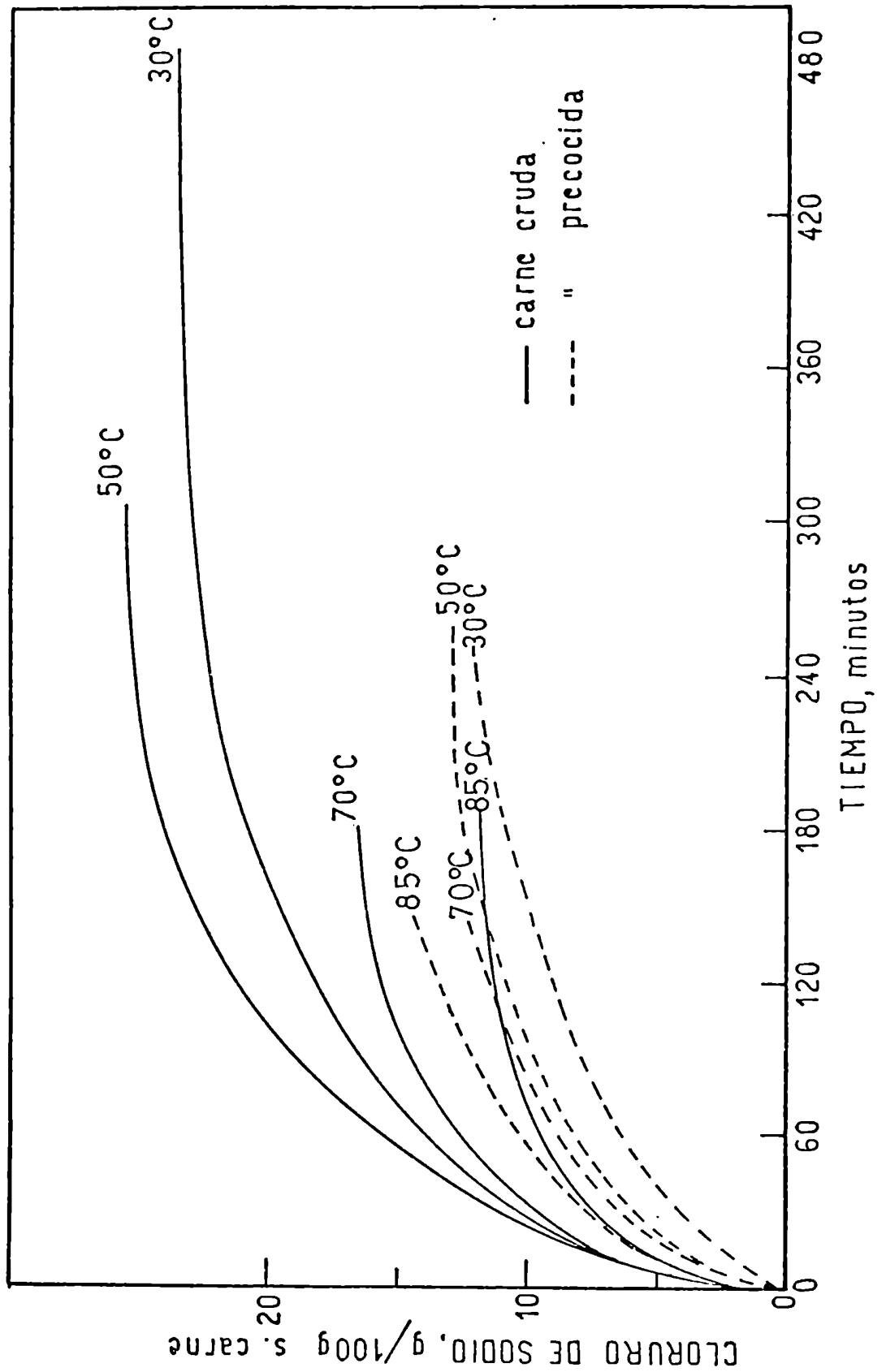


FIGURA 23 :Comparación de la cinética de entrada de ClNa para carne cruda y precocida a distintas temperaturas.

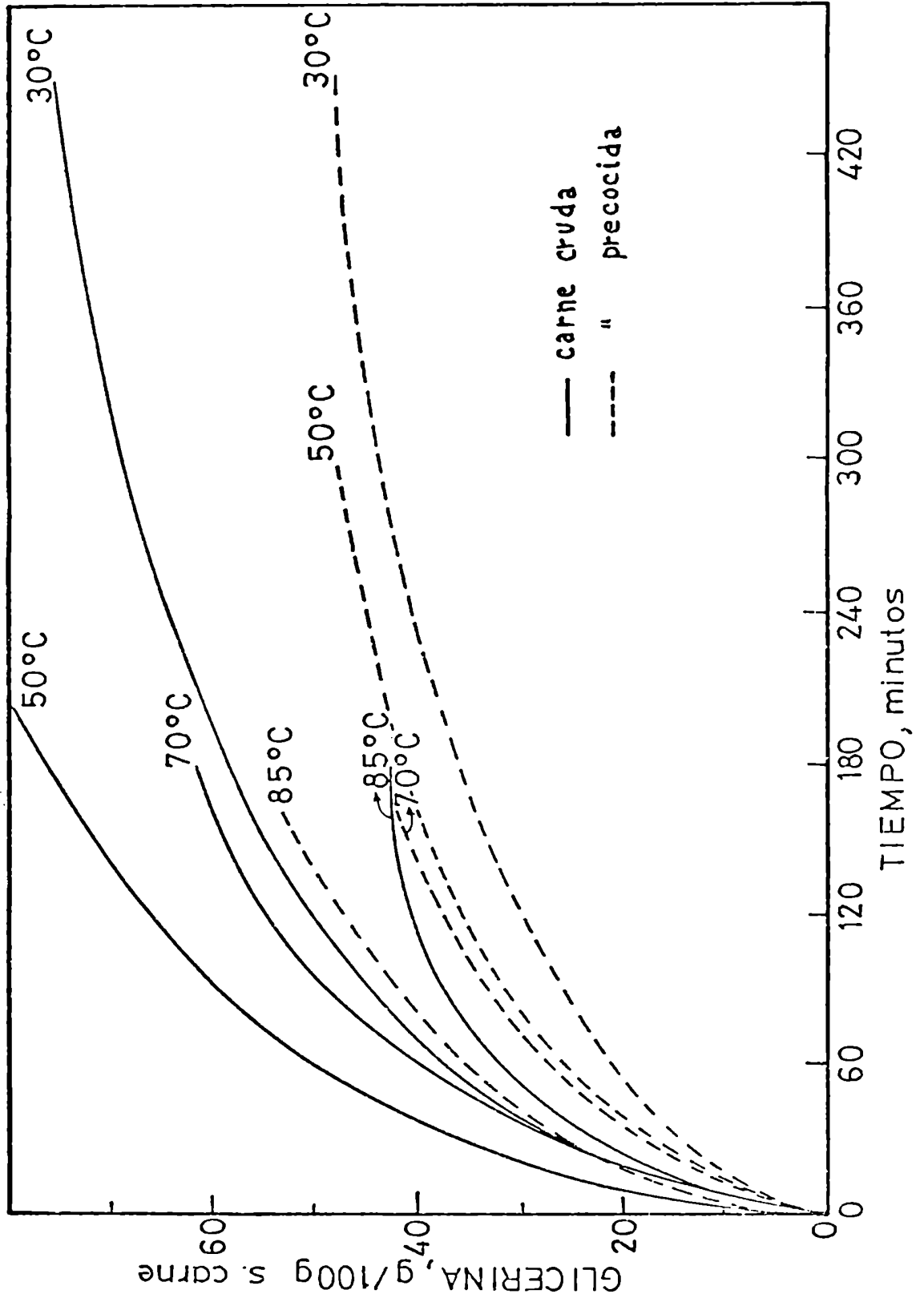


FIGURA 24 : Comparación de la cinética de entrada de glicerina para carne cruda y precocida a distintas temperaturas.

al gran flujo de agua que se pierde por desnaturalización en dirección opuesta a la entrada de solutos, esto ofrece una resistencia adicional y por lo tanto retarda la difusión de los solutos a elevadas temperaturas, mientras que para 50 y 30 se guarda la secuencia esperada de mayor velocidad a mayor temperatura.

En el caso de la carne precocida la estructura de la carne permanecerá casi invariable durante la deshidratación a todas las temperaturas, así no se ofrecerá una resistencia extra pues no hay flujo de agua en dirección opuesta y por lo tanto como vemos en las figuras se respeta el orden de velocidad de entrada con respecto a las temperaturas de deshidratación (> veloc. a > temp.).

IV.g - Predicción de la actividad de agua

Una manera rigurosa de calcular la actividad de agua tanto para soluciones simples como para complejas, es dada por la ecuación Gibbs-Duhem:

$$\sum_i n_i d(\ln a_i) = 0$$

donde n_i es el número de moles del componente i y a_i es la actividad del componente i . Para una solución que contiene un solo soluto (n) con una molalidad m_n tenemos:

$$\begin{aligned} 55,5 d(\ln a_w) &= - m_n d(\ln a_n) \\ &= - m_n d \ln(m_n \gamma_n^0) \end{aligned}$$

En el segundo renglón de la ecuación anterior se expresó la actividad de agua del soluto como producto de la concentración por el coeficiente de actividad del soluto (el supraíndice ⁰ indica que es una solución de un solo soluto). La integración de esta ecuación diferencial es frecuentemente muy difícil y es usualmente realizada en forma gráfica con la elección de los límites de integración adecuados (Garrow, 1966).

Ross (1975) deja expresada esta integral en forma simbólica, para el caso de un solo soluto,

$$\ln(a_w^0) = - \frac{1}{55,5} \int_{m_n} m_n d(\ln(m_n \gamma_n^0)) \quad (1)$$

Para el caso de soluciones complejas la ecuación de Gibbs-Duhem en su forma integrada es:

$$\ln(a_w) = - \frac{1}{55,5} \left\{ \int_{m_1} m_1 d(\ln(m_1 \gamma_1')) + \int_{m_2} m_2 d(\ln(m_2 \gamma_2')) + \dots + \int_{m_i} m_i d(\ln(m_i \gamma_i')) \right\} \quad (2)$$

En una mezcla el coeficiente de actividad ya no tiene el mismo valor que en una solución simple y es designado como γ_i' . En general γ_i' depende de la identidad y concentración de todos los componentes de la solución. Asumiendo que las interacciones soluto-soluto no afectan el valor de cada coeficiente de actividad o desde otro punto de vista el efecto de la interacción se anula en el promedio,

$$\gamma_i^0 = \gamma_i'$$

Luego,

$$\ln(a_w) = -\frac{1}{55,5} \left\{ \int_{m_1} m_1 d(\ln(m_1 \gamma_1^0)) + \int_{m_2} m_2 d(\ln(m_2 \gamma_2^0)) + \dots + \int_{m_i} m_i d(\ln(m_i \gamma_i^0)) \right\} \quad (3)$$

Cada término de la derecha de la ecuación (3) es una forma de la ecuación (1) sustituyendo tenemos:

$$\ln(a_w) = \ln(a_w^0)_1 + \ln(a_w^0)_2 + \ln(a_w^0)_3 + \dots + \ln(a_w^0)_i \quad 6$$

$$(a_w) = (a_w^0)_1 \cdot (a_w^0)_2 \cdot (a_w^0)_3 \cdot \dots \quad (4)$$

Entonces la actividad de agua es simplemente el producto de los valores de a_w para soluciones simples de cada uno de los solutos medidas a la misma concentración que tienen en la solución compleja.

Ross (1975) demostró la validez de su ecuación midiendo la a_w de varias soluciones de azúcares y sales. Sloan y Labuza (1976) utilizaron la ecuación de Ross para predecir la a_w en alimento de humedad intermedia para perros. Chuang and Toledo (1976) comprobaron la ecuación (4) con mezclas de agua, sacarosa y ClNa y también con mezclas sólidas de almidón y trigo. Chirife (1978) aplicó la ecuación de Ross a una gran cantidad de carnes de humedad intermedia registrados en literatura y a alrededor de cuarenta alimentos "semi-húmedos" que se elaboran en la Argentina (M. S. Vigo et al. 1979).

Los resultados obtenidos en las referencias citadas fueron satisfac

torios e indican que la ecuación de Ross es un método simple y razonable para predecir la a_w .

Para aplicar la ecuación (4) es necesario conocer la actividad de agua de las soluciones simples de cada soluto $(a_w^0)_i$. En nuestro caso la actividad de agua de una carne de humedad intermedia (C.H.I.) formulada con cloruro de sodio y glicerina puede ser expresada como:

$$(a_w)_{C.H.I.} = (a_w^0)_S \cdot (a_w^0)_G \cdot (a_w^0)_{SS} \quad (5)$$

donde $(a_w^0)_S$ es el valor de la actividad de agua de una solución acuosa de ClNa a la misma molalidad que en la fase acuosa de la carne, $(a_w^0)_G$ es el valor de actividad de agua de una solución acuosa de glicerina a la misma molalidad que en la fase acuosa de la carne y $(a_w^0)_{SS}$ es el término de actividad de agua debido a la natural presencia de los sólidos solubles de la carne. Aunque se puede anticipar que esta contribución a la disminución de la actividad de agua es pequeña esto será considerado más adelante.

La actividad de agua de las soluciones simples de ClNa y glicerina en función de la concentración se obtuvieron siguiendo el razonamiento de una serie de trabajos realizados por Benmergui et al. (1980) y Chirife et al. (1980).

Para el caso del cloruro de sodio, basándonos en la ecuación de Pitzer (1973) o en la ecuación de Bromley (1973) indistintamente podemos calcular el coeficiente osmótico de la siguiente manera:

$$\psi = 1 + |z_M z_X| f + m \left(\frac{z_M \nu_X}{\nu} \right) B_{MX} + m^2 z \left(\frac{\nu_M \nu_X}{\nu} \right)^{3/2} C_{MX} \quad \text{PITZER}$$

$$f = -A \left(\frac{I^{1/2}}{1 + b I^{1/2}} \right) \quad B_{MX} = \beta_{MX}^0 + \beta_{MX}^1 \exp(-\alpha I^{1/2})$$

donde ν_M y ν_X son los números de iones de M y de X, z_M y z_X son sus respectivas cargas, A es el coeficiente de Debye-Huckel, b y α son ctes., B_{MX} y C_{MX} son el segundo y tercero coeficientes del Virial, I es la fuerza iónica.

$$\psi = 1 - 2,303 \left\{ A \gamma |z_+ z_-| \frac{I^{1/2}}{3} (\rho I^{1/2}) - (0,06 + 0,6 B) |z_+ z_-| \frac{I}{2} (aI) - B \frac{I}{2} \right\} \quad \text{BROMLEY}$$

$$\rho(I^{1/2}) = \frac{3}{(\rho I^{1/2})^3} \left(1 + \rho I^{1/2} - \frac{1}{1 + \rho I^{1/2}} - 2 \ln(1 + \rho I^{1/2}) \right)$$

$$\psi(aI) = 2/aI \left(\frac{1 + 2aI}{(1 + aI)^2} - \frac{\ln(1 + aI)}{aI} \right) \quad a = \frac{1,5}{|z_+ z_-|}$$

donde ρ y $A \gamma$ son ctes. y B es un parámetro para cada soluto, en el caso de ClNa, B = 0,058 k/mol.

Los datos obtenidos de coeficiente osmótico por cualquiera de las dos ecuaciones anteriores se utilizaron para calcular la actividad de agua de las soluciones simples de ClNa a través de la siguiente relación:

$$a_w = p/p^0 = \exp(-\psi m_1 m \nu)$$

donde m_1 es el número de kg por mol de agua

m es la molalidad del soluto

ν es el número de moles de todas las especies las cuales dan 1 mol de soluto en solución.

Para el caso de la glicerina, se utilizó la ecuación desarrollada por Norrish (1966). Basándose en un simple análisis termodinámico de soluciones ésta fue usada ampliamente por Chirife et al. (1980) para una gran variedad de no-electrolitos:

$$a_w = X_1 \cdot \exp(-K X_2^2)$$

donde X_1 es la fracción molar de agua

X_2 es la fracción molar de soluto

K es una constante característica de cada soluto no-electrolito, para el caso de la glicerina $K = 1,16 \pm 0,01$.

En las figuras 25 y 26 se muestran las curvas de a_w de soluciones simples de ClNa y glicerina en función de los porcentajes en peso, a partir de las ecuaciones anteriores.

Efecto de los sólidos solubles:

Estos sólidos solubles en la carne consisten principalmente en proteínas, aminoácidos, carbohidratos y sales inorgánicas. Esta contribución para disminuir la a_w puede ser cuantificada por la simple medida del punto de congelación del jugo de carne.

Se ha demostrado que los valores de a_w de soluciones que tienen muy

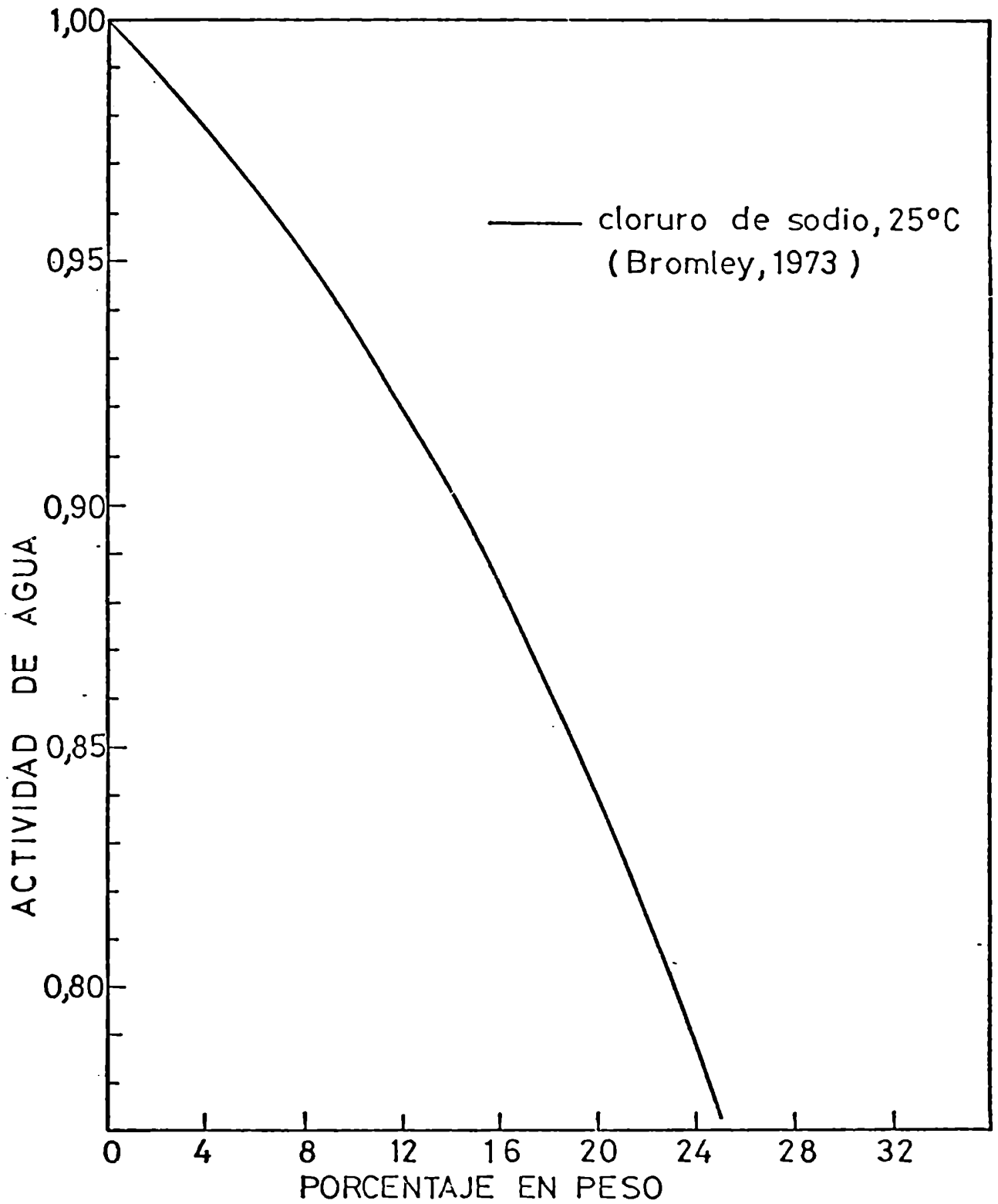


FIGURA 25 :Actividad de agua de soluciones simples de cloruro de sodio aplicando la ecuación de Bromley(1973).

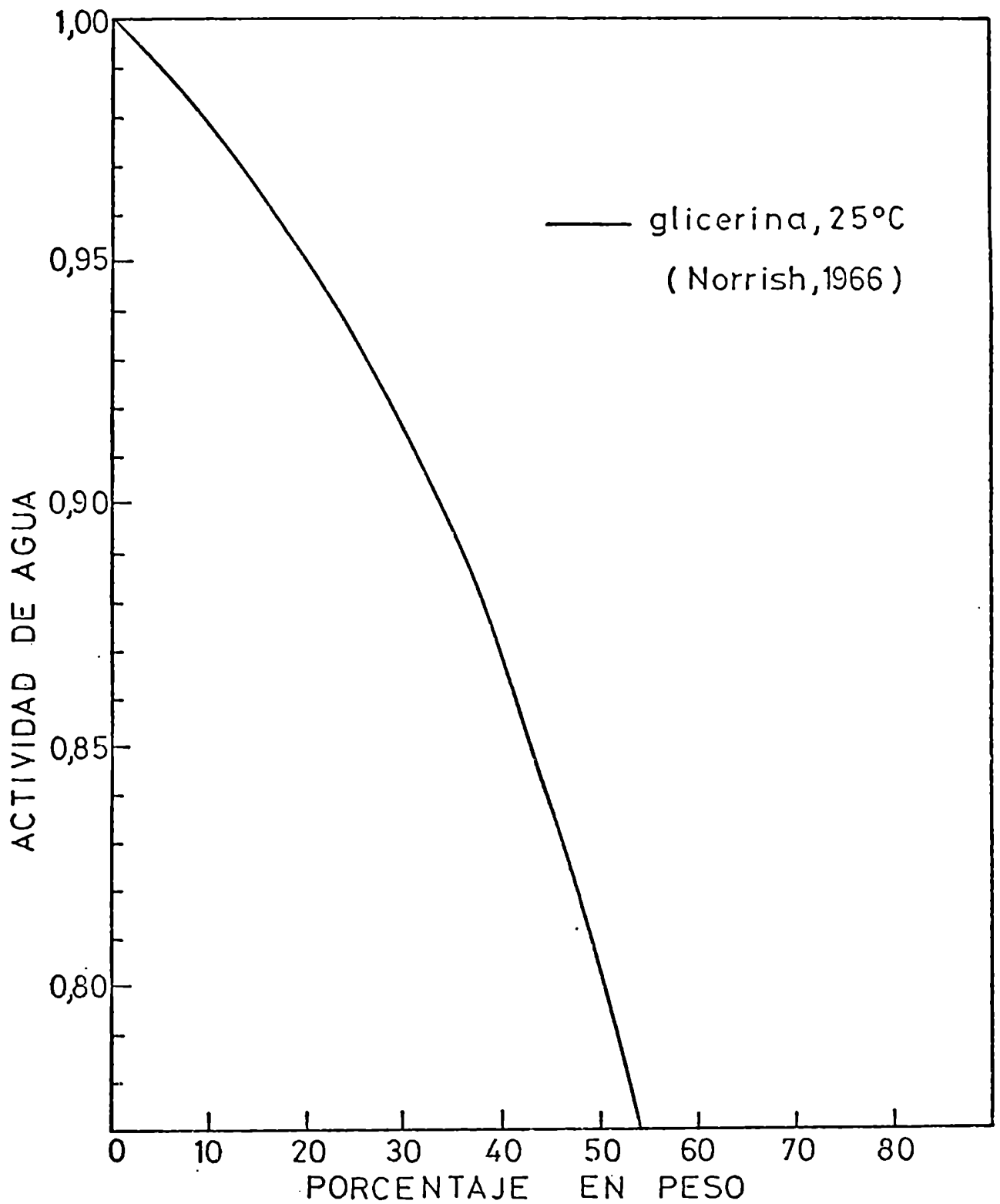


FIGURA 26 :Actividad de agua de soluciones simples de glicerina aplicando la ecuación de Norrish(1966).

altas actividades (0,98) pueden ser bien calculadas por la medida de su punto de congelación (Chirife et al. 1981). Los crióscopos para leche disponibles en la actualidad permiten un alto grado de exactitud (Zarb and Howrigan 1979, Nijpels et al. 1980) en la determinación del punto de congelación y por lo tanto en la a_w . La relación entre el punto de congelación de una solución acuosa y su actividad de agua está dado por (Robinson and Stokes, 1965):

$$-\ln a_w = \frac{1}{R} (L_o - \bar{J} T_o) \left(\frac{1}{T_F} - \frac{1}{T_o} \right) + \frac{\bar{J}}{R} \ln \frac{T_o}{T_F} \quad (1)$$

donde L_o es el calor latente de fusión en el punto de congelación del agua pura (T_o), \bar{J} es la diferencia de capacidades caloríficas molales entre el agua líquida y hielo y T_F es el punto de congelación de la solución. La ecuación (1) es obtenida asumiendo que \bar{J} es independiente de la temperatura en el rango comprendido entre T_o y T_F . Ferro Fontán and Chirife (1980) muestran que esta suposición no afecta la exactitud del cálculo de a_w , pues entre 0°C y -15°C ($a_w = 0,864$) \bar{J} variaba en un 7% y el cambio producido sería solamente en 0,0004 unidades de a_w .

Si introducimos el descenso del punto de congelación $\theta_F = T_o - T_F$ y hacemos un desarrollo en serie del logaritmo de T_o/T_F tenemos:

$$\ln T_o / T_F = \frac{\theta_F}{T_o} + \frac{\theta_F^2}{2 T_o^2} \quad \text{y reemplazando en (1) queda:}$$

$$-\ln a_w = \frac{L_o \theta_F}{R T_o} + \left(\frac{L_o}{R T_o} - \frac{\bar{J}}{2R} \right) \frac{\theta_F^2}{T_o^2} \quad (2)$$

Tomando $L_0 = 1435,5$ cal/mol y $\bar{J} = 9,099$ cal/C mol (Robinson and Stokes, 1965) la ecuación anterior se simplifica a:

$$- \ln a_w = 9,0934 \cdot 10^{-3} \theta_F + 4,751 \cdot 10^{-6} \theta_F^2 \quad (3)$$

Miracco et al. (1960) muestran que los valores de a_w provenientes de la medida del descenso del punto de congelación usando un crioscopio para leche pueden ser expresados con seguridad hasta la cuarta cifra decimal.

La figura 27 muestra la variación de a_w en placas de carne como una función del tiempo de inmersión en agua pura a 30 y 85°C. Se puede ver que la a_w de la carne fresca es cercano a 0,991 y aumenta durante la inmersión debido a la pérdida de sólidos solubles del músculo por difusión a la fase acuosa externa.

Estos resultados permiten ahora realizar una predicción más exacta de la actividad de agua pues el término $(a_w^0)_{SS}$ en la ecuación (5) puede ser calculado aproximadamente de las curvas de la figura 27.

La figura 28 muestra los datos de a_w experimentales y predichos en placas de carne (0,9 cm. de espesor) como una función del tiempo de inmersión. La línea llena representa los valores predichos en base a la "molalidad de la carne", sin tener en cuenta el pequeño efecto de los sólidos solubles. Se puede ver que los valores predichos coinciden bastante bien con los valores reales a las temperaturas consideradas (30, 50 y 85°C).

Debemos hacer notar que la medida de la a_w de la carne de humedad intermedia fue realizada a 25°C y no a la temperatura de la solución (30, 50 y

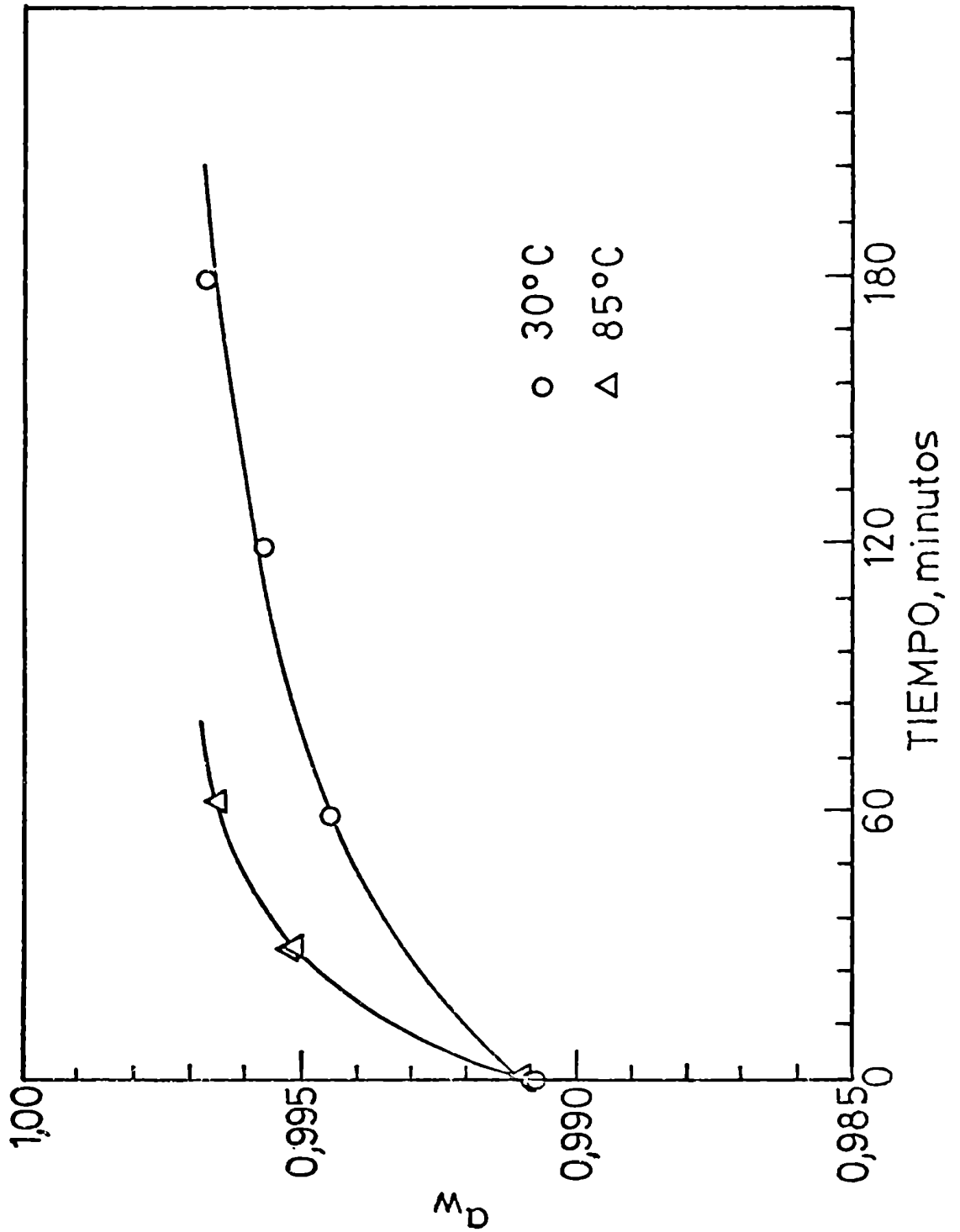


FIGURA 27 :Término de actividad de agua correspondiente al efecto de los sólidos solubles en función del tiempo.

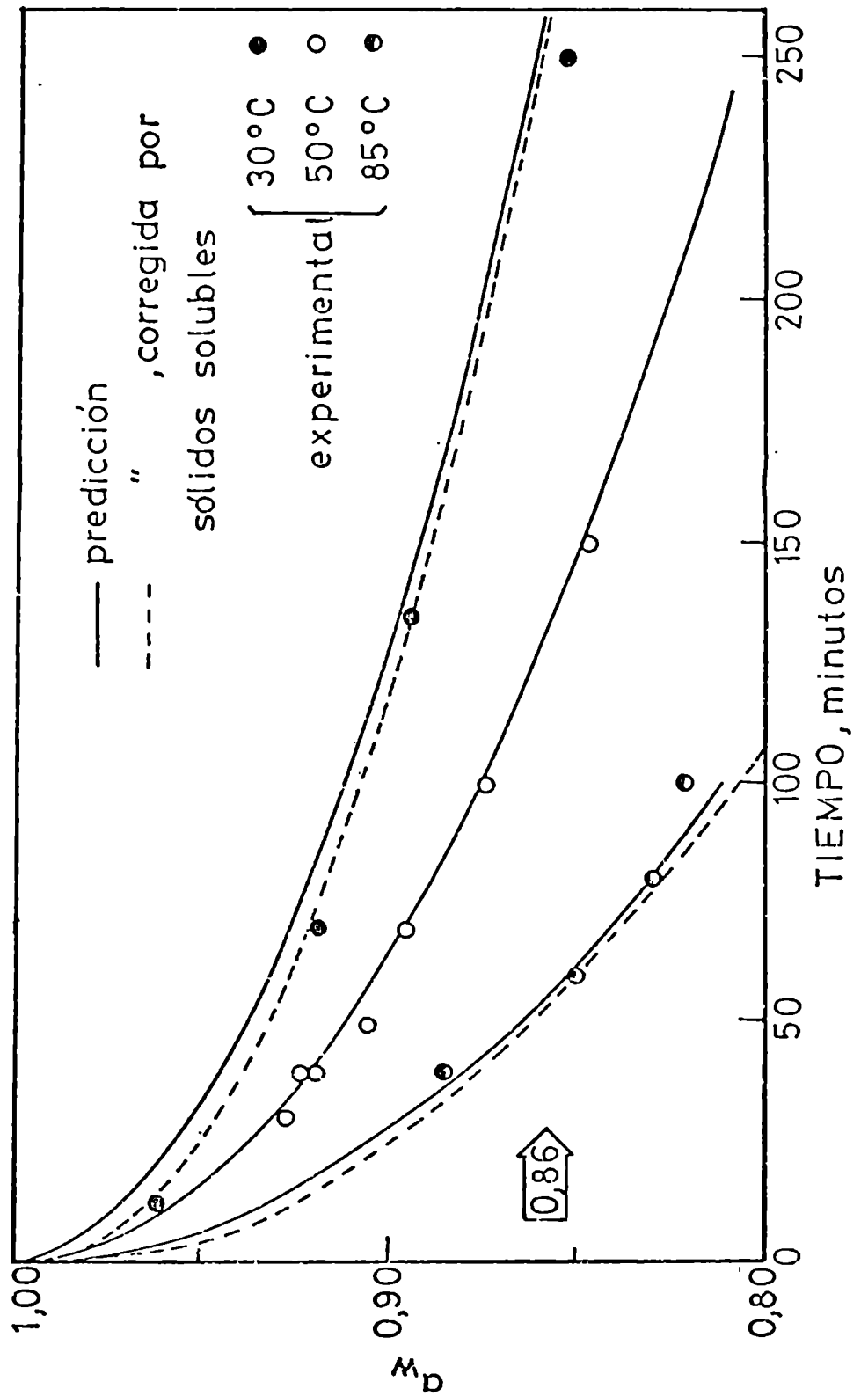


FIGURA 2B : Datos de actividad de agua experimentales y predichos en placas de carne en función del tiempo de inmersión.

85°C) respectivamente, pero basándonos en el trabajo realizado por Ferro Fontán and Chirife (1980) que evaluaron la a_w en soluciones por la medida del descenso crioscópico y ascenso ebulloscópico, podemos comparar la actividad de agua medida a 25°C con la actividad de agua medida por ascenso ebulloscópico.

La relación entre el punto de ebullición de una solución acuosa que contiene un soluto no volátil y la a_w es la siguiente (Denbigh, 1964):

$$-\ln a_w = \frac{L_B - \bar{G} T_E}{R} \left(\frac{1}{T_{100}} - \frac{1}{T_B} \right) + \frac{\bar{G}}{R} \ln \frac{T_B}{T_{100}}$$

donde L_B es el calor latente a la temperatura de ebullición del agua pura (T_{100})

\bar{G} es la diferencia de capacidades caloríficas del agua como vapor y como líquido.

T_E es el punto de ebullición de la solución.

Esta ecuación puede ser aproximada a:

$$-\ln a_w = 35,127 \cdot 10^{-3} \theta_B - 1,1195 \cdot 10^{-4} \theta_B^2$$

donde θ_B es el ascenso ebulloscópico ($T_B - T_{100}$) y la actividad de agua obtenida de esta ecuación es a la temperatura de ebullición de la solución (T_B).

Los datos de elevación del punto de ebullición de soluciones de ClNa y glicerina se obtienen de literatura (Int. Crit. Tables, 1926; Perry, 1963;

Hodgman, 1944) y la ecuación anterior es utilizada para calcular la a_w . Los resultados se muestran en las figuras 29 y 30 comparados con la a_w medida a 25°C. En ambos casos las diferencias no superan las 0,01 unidades de a_w , por lo tanto podemos asumir que la actividad de agua medida a 25°C es la misma que la obtenida a altas temperaturas como las utilizadas en la deshidratación de carne.

Efecto de los no-solutos:

Hasta este punto, hemos considerado solamente la fase acuosa del músculo de carne, teniendo en cuenta que los componentes no-solutos no tienen una molalidad definida. No obstante es bien conocido el hecho de que materiales no-solutos (almidón, proteínas, celulósicos, etc.) presentes en los alimentos ligan agua y ayudan a disminuir su actividad de agua a través de un fenómeno de adsorción.

Ross (1975) sugiere que un factor " a_w^0 " pueda ser asignado para cada no-soluto en base a las isotermas de adsorción, considerando que toda el agua es adsorbida en cada no-soluto separadamente. Estos a_w^0 de cada no-soluto así definidos pueden ser incluidos en la ecuación (5) y conducir a una predicción más exacta de la actividad de agua.

Chirife (1978) mostró que esta contribución, solo debería considerarse cuando la relación no-soluto (no graso)/agua (r) era superior a 2-3, dependiendo del no-soluto considerado. Dado que en todas las corridas realizadas $r < 2$ o sea que la mezcla no-soluto-humedad da una a_w cercana a 1, entonces podemos despreciar el efecto de los no-solutos en la predicción de la actividad de agua de carnes de humedad intermedia.

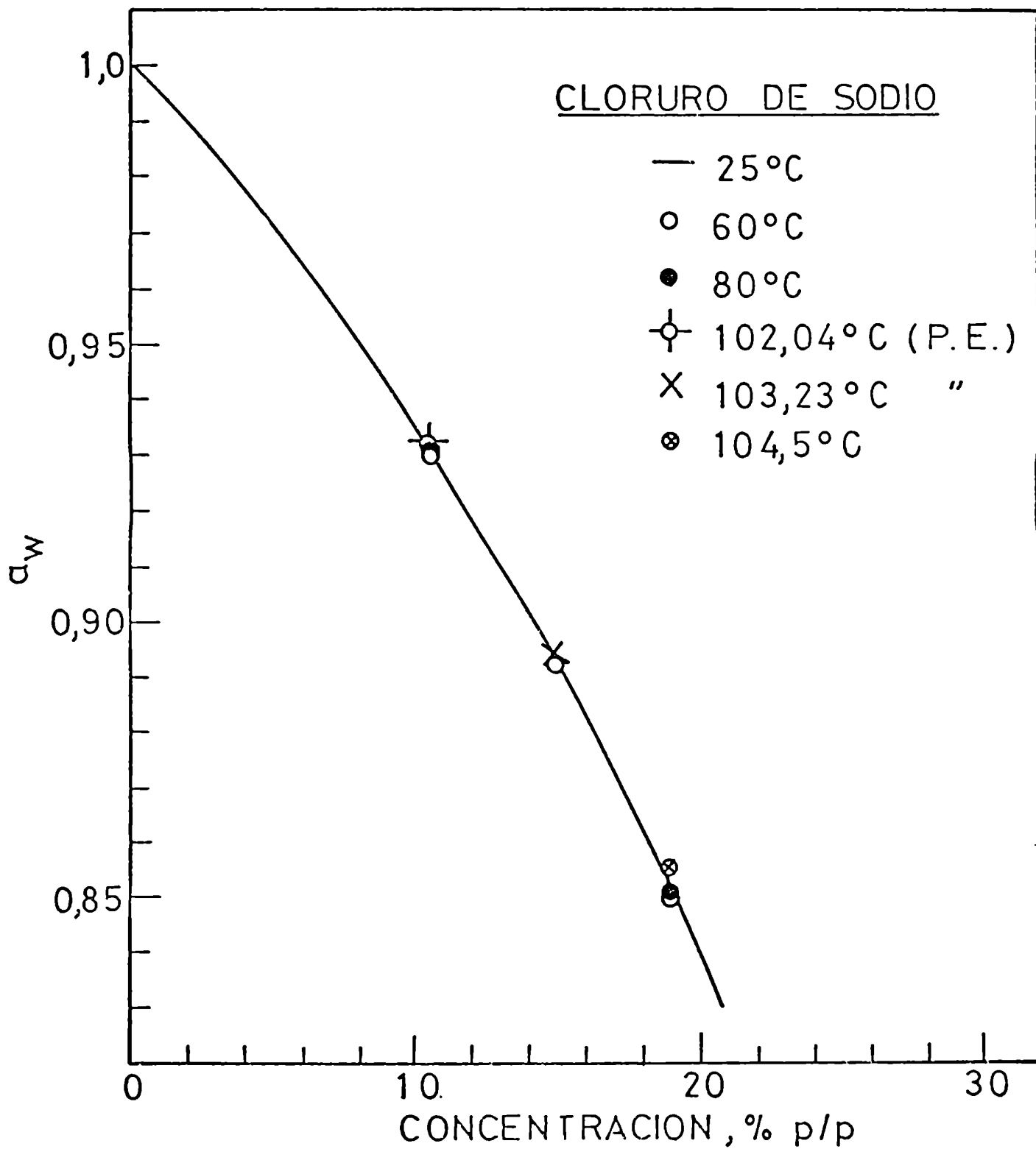


FIGURA 29 :Comparación de actividades de agua obtenidas a 25°C y por ascenso ebulloscópico para cloruro de sodio.

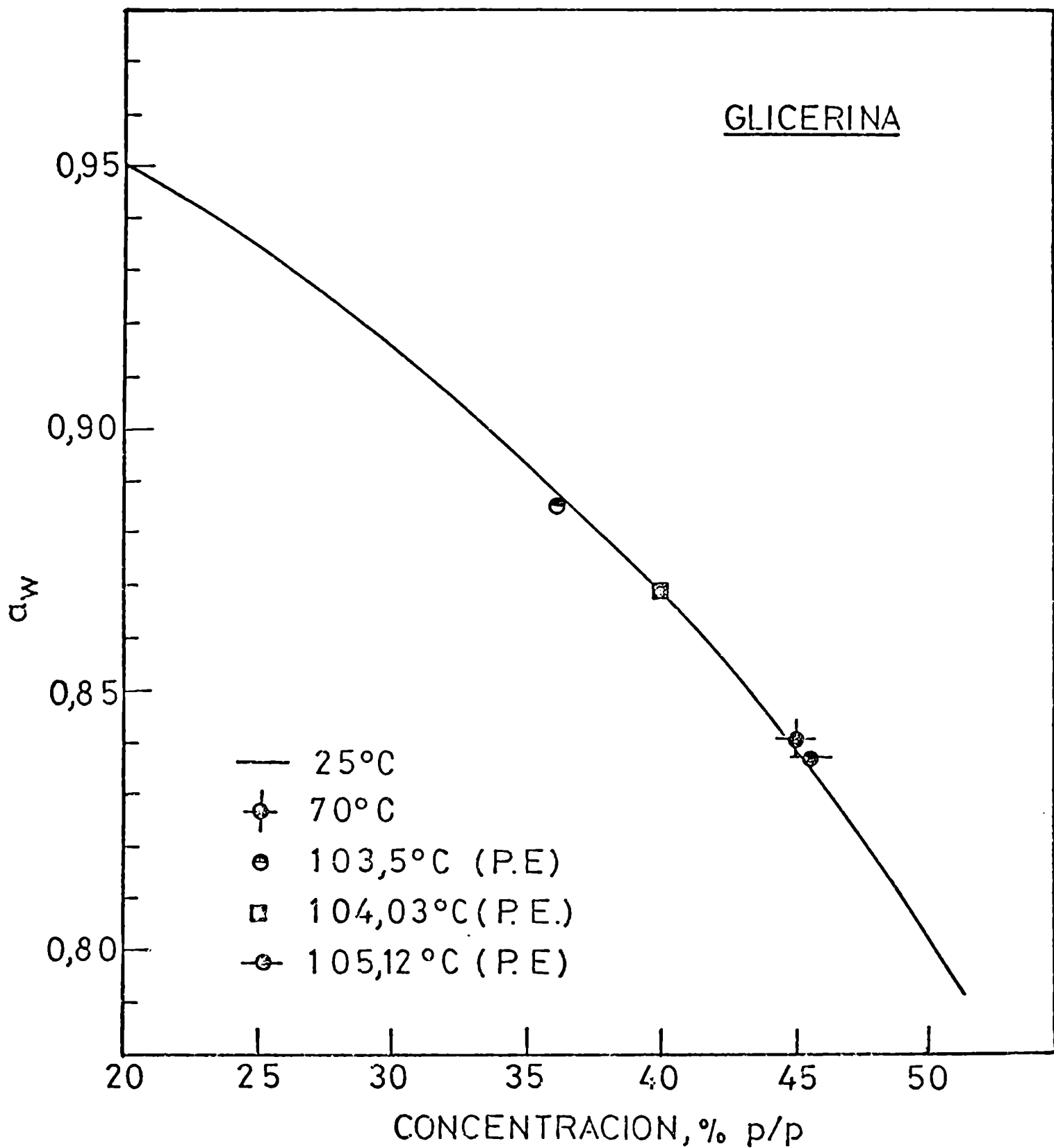


FIGURA 30 :Comparación de actividades de agua obtenidas a 25°C y por ascenso ebulloscópico para glicerina.

IV.h - Método Integral:

Este método integral fue utilizado por Zugarramurdi and Lupín (1977, 1980) para cuantificar la penetración de sal durante el salado de anchoíta, nosotros lo vamos a probar en la cinética de penetración simultánea de sal y glicerina en carne vacuna.

Las ecuaciones cinéticas simples para la entrada de cloruro de sodio y glicerina son:

$$\frac{dm_s}{dt} = k'_s (m_s^{\infty} - m_s) \quad s: \text{ClNa}$$

$$\frac{dm_g}{dt} = k'_g (m_g^{\infty} - m_g) \quad g: \text{glicerina}$$

donde m_i es la molalidad del componente i expresada en moles de $i/1000$ g de agua en la carne y los m_i^{∞} son los valores correspondientes al estado de equilibrio. Los k'_i son los coeficientes "globales" expresados en $(\text{tiempo})^{-1}$. Las condiciones iniciales son:

$$\begin{aligned} \text{a } t = 0 \quad m_s &= m_s^0 \\ m_g &= m_g^0 \end{aligned}$$

por lo tanto las soluciones de estas ecuaciones diferenciales son:

$$m_s = m_s^0 e^{-k'_s t} + m_s^{\infty} (1 - e^{-k'_s t}) \quad y$$

$$m_g = m_g^0 e^{-k'_g t} + m_g^\infty (1 - e^{-k'_g t})$$

Para evaluar los datos experimentales se adoptó el método usado por Swinbourne (1960) y Mangeldorf (1959) el cual consiste simplemente en la transformación de una expresión exponencial en una expresión lineal. Reordenando las soluciones anteriores se pueden relacionar entre sí los valores que se hallan entre un determinado intervalo de tiempo (Δt) constante, a saber:

$$m_s(t + \Delta t) = m_s (1 - e^{-k'_s \Delta t}) + e^{-k'_s \Delta t} m_s(t)$$

$$m_g(t + \Delta t) = m_g (1 - e^{-k'_g \Delta t}) + e^{-k'_g \Delta t} m_g(t)$$

De manera que conociendo la cinética de entrada de ClNa y glicerina podemos obtener los datos de $m_i(t + \Delta t)$ y $m_i(t)$. Las figuras 31 y 32 muestran que el modelo se cumple muy bien tanto para ClNa y glicerina y a todas las temperaturas consideradas (30, 50 70 y 85°C). Para $t = \infty$ tenemos,

$$m_s = m_s^\infty \quad \text{y} \quad m_g = m_g^\infty$$

entonces los valores de m_s^∞ y m_g^∞ se obtienen de la intersección de la recta correspondiente a la deshidratación y la recta en la cual se cumple que $m_i(t + \Delta t) = m_i(t)$. En la tabla 11 se observan los valores de k'_s , k'_g , m_s^∞ y m_g^∞ obtenidos por el método de cuadrados mínimos.

Las características más notables de este procedimiento son:

1) Los datos de concentración pueden ser usados sin necesidad de ser transformados sacando logaritmos ni diferencias. Los gráficos son rápidos

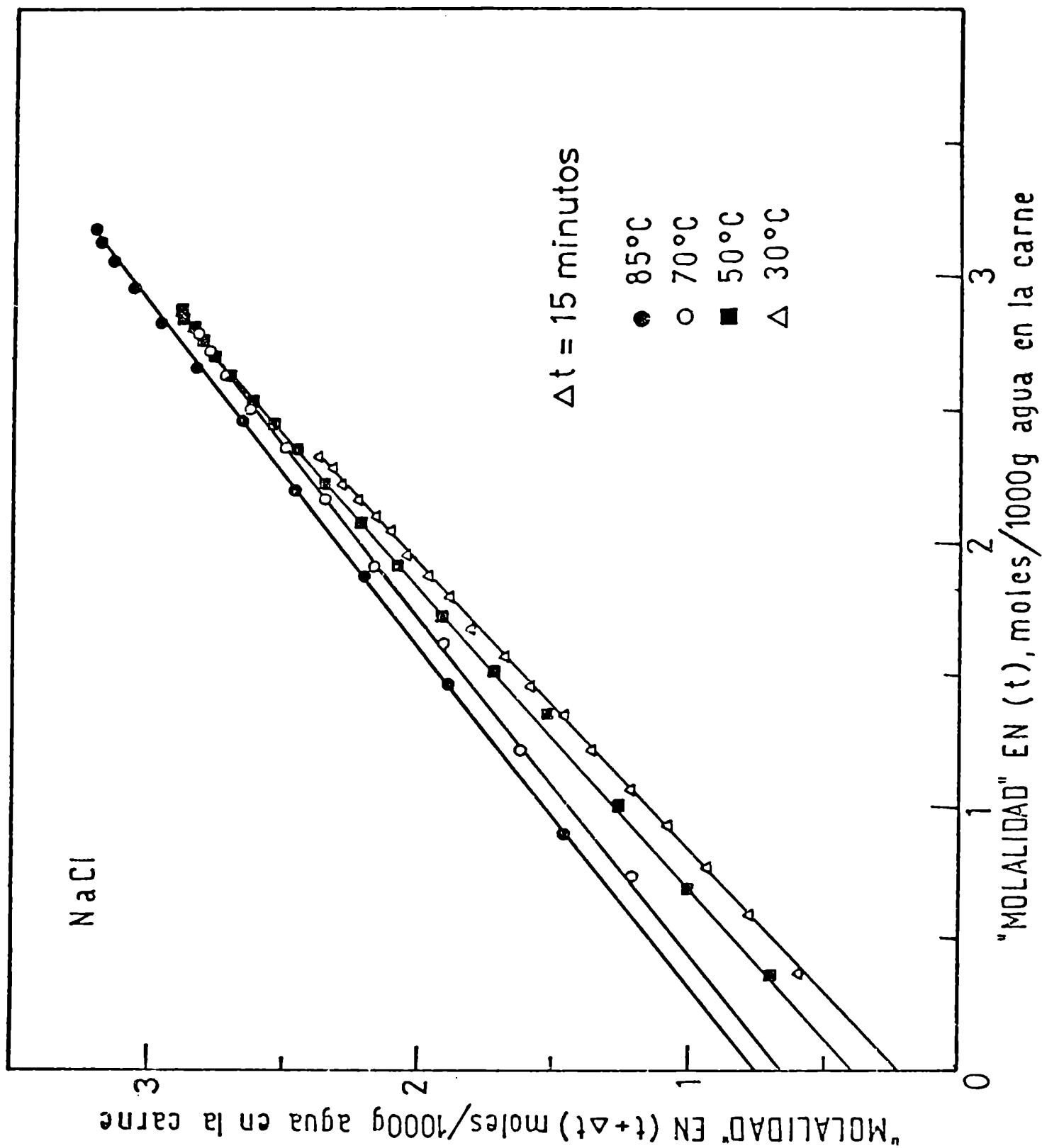


FIGURA 31 :Expresión lineal de la cinética de entrada de cloruro de sodio a distintas temperaturas.

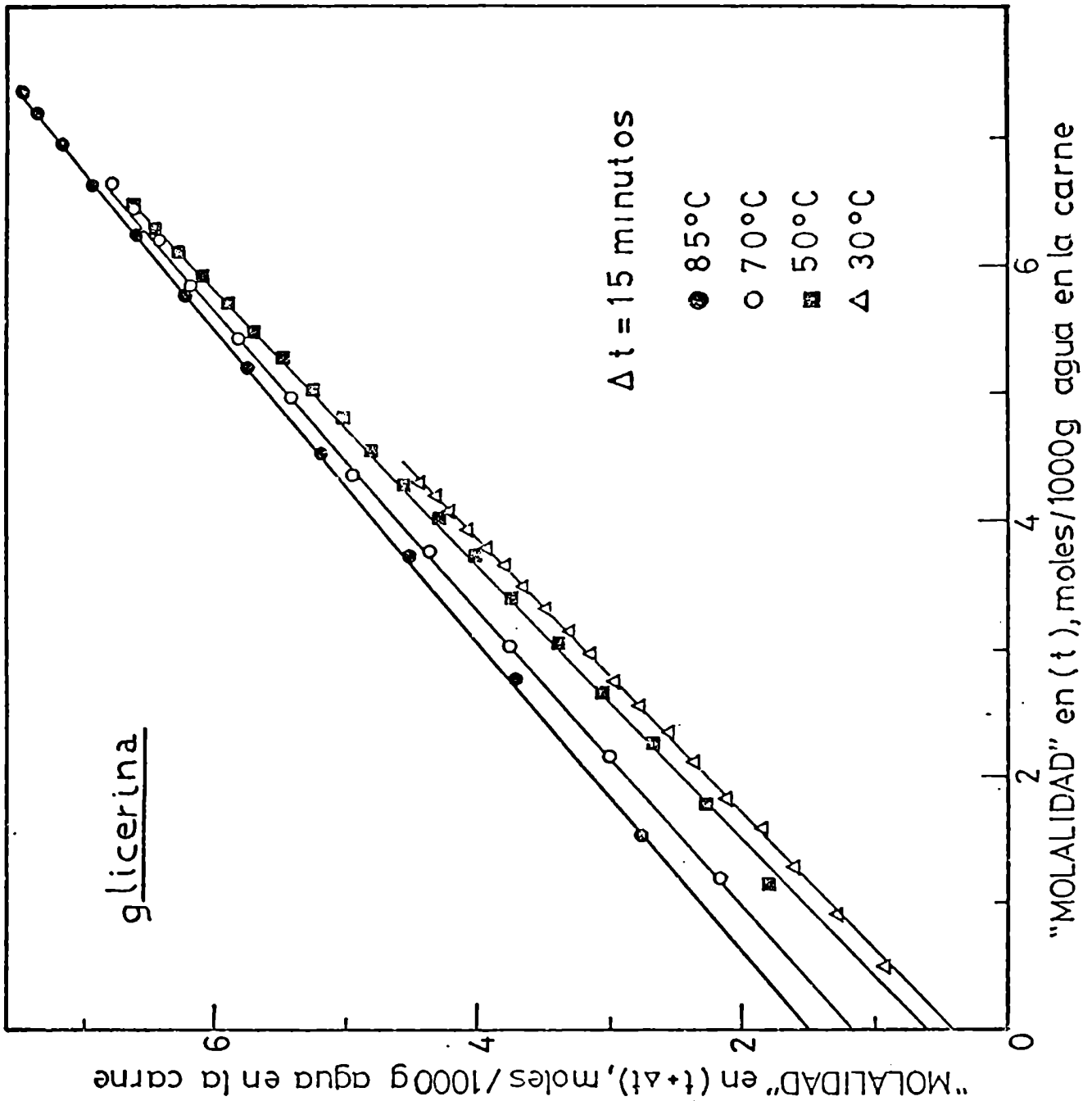


FIGURA 32 : Expresión lineal de la cinética de entrada de glicerina a distintas temperaturas.

Tabla 11: Coeficientes de transferencia de masa y concentraciones de equilibrio obtenidos a partir del método integral.

	TEMPERATURA	$e^{-k_i \Delta t}$	$m_i^\infty (1 - e^{-k_i \Delta t})$	$k_i (1/\text{min})$	m_i^∞
ClNa	85	0,7774	0,7493	$1,68 \cdot 10^{-2}$	3,3661
	70	0,7843	0,6531	$1,62 \cdot 10^{-2}$	3,0278
	50	0,8752	0,3945	$0,88 \cdot 10^{-2}$	3,1611
	30	0,9191	0,2320	$0,56 \cdot 10^{-2}$	2,8677
glicerina	85	0,8219	1,4777	$1,31 \cdot 10^{-2}$	8,2970
	70	0,8543	1,1727	$1,05 \cdot 10^{-2}$	8,0487
	50	0,9296	0,5926	$0,49 \cdot 10^{-2}$	8,4176
	30	0,9291	0,4052	$0,49 \cdot 10^{-2}$	5,7151

y fáciles de realizar y un número de gráficos usando distintos valores de Δt convenientemente graficados en un solo diagrama resulta útil.

2) Los valores de k_i^i , m_i^0 y m_i^{∞} pueden ser determinados de los gráficos. Para obtener estimaciones de k_i^i y m_i^0 los datos se grafican sobre un período de tiempo más grande que $t_{1/2}$, Δt debe ser del orden de $0,5 t_{1/2} - t_{1/2}$. Para una exacta estimación de la pendiente un método numérico es preferido.

3) El método es relativamente insensible a las desviaciones que se puedan producir de la ley de 1^o orden.

4) En comparación con los métodos de Guggenheim (1926) y Hartley (1948) este método es simple y versátil.

V. - CONCLUSIONES GENERALES:

Este trabajo permitió obtener datos cinéticos de la reducción de la actividad de agua en carne vacuna, sumergida en soluciones de actividad de agua constante formuladas con cloruro de sodio y glicerina. Estos datos son de utilidad para el diseño y/u optimización de un proceso de preservación de carne utilizando el método de reducción de actividad acuosa, dado que estos son los primeros datos en literatura donde se dan los resultados cuantitativos de la velocidad del proceso.

Se demostró que las condiciones de equilibrio entre el músculo de carne vacuna y la solución externa está dado por la igualdad de concentraciones de cloruro de sodio y glicerina en el agua de la carne y en la solución externa de baja actividad de agua.

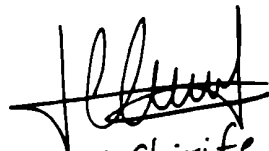
Se correlacionó el efecto de diversas variables de importancia tales como la temperatura de la solución y el espesor de la muestra en la velocidad de reducción de la actividad de agua en la carne. Se estudió además el efecto de ciertos pretratamientos tales como el congelado, tipo de corte y variabilidad que se podría esperar con otros tipos de carnes, comparándolos con la carne vacuna, con referencia a sus cinéticas de reducción de actividad de agua. Estos resultados permiten obtener un panorama de cuáles son todas las variables que hay que tener en cuenta en el diseño de un proceso de este tipo.

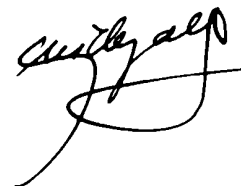
Paralelamente se intentó un análisis de los datos de ganancia de solutos (glicerina y cloruro de sodio) en términos idealizados de un transporte

difusional que sigue a la ley de Fick. A pesar de la complejidad del sistema derivada de la existencia de varios flujos simultáneos (agua y solutos), desnaturalización, encogimiento, etc., se pudo expresar los datos de penetración de cloruro de sodio y glicerina en términos de una forma simplificada de la ley de Fick que permite obtener un tipo de coeficiente de difusión.

A pesar de las limitaciones impuestas por el sistema, ya mencionadas, los valores obtenidos guardan una razonable similitud con los valores obtenidos por otros investigadores en procesos más sencillos, es decir, en presencia de un solo soluto y a temperaturas mucho más bajas. Lo cual demuestra que aunque no represente la complejidad física del proceso que se está realizando, la ley de Fick es en ciertas ocasiones una herramienta matemática muy útil para interpretar los datos de ganancia de solutos.

Posteriormente se hizo un estudio sobre la predicción de la actividad de agua en función del tiempo de proceso. Utilizando diversos modelos para predecir la actividad de agua se puede llegar a demostrar en forma sencilla cómo varía la actividad de agua en función del tiempo, lo cual es una medida de cuál es el tiempo necesario para alcanzar la estabilidad microbiológica y físico-química del producto.


J. Chirife



VI - NOMENCLATURA

a_{ClNa} = actividad del cloruro de sodio

$a_{\text{glic.}}$ = actividad de la glicerina

a_i = actividad del componente i

a_n = actividad del soluto n

a_w = actividad del agua

a_w^0 = actividad del agua en una solución simple

$(a_w)_{\text{C.H.I.}}$ = actividad del agua en carne de humedad intermedia

$(a_w^0)_G$ = actividad del agua en soluciones simples de glicerina

$(a_w^0)_S$ = actividad del agua en soluciones simples de cloruro de sodio

$(a_w^0)_i$ = actividad del agua en soluciones simples del componente i

$(a_w^0)_{\text{SS}}$ = actividad del agua de los sólidos solubles en la carne

B = parámetro para cada soluto

B_{MX} = segundo coeficiente del Virial

C = concentración, moles/cm³

C_{MX} = tercer coeficiente del Virial

D = coeficiente de difusión, cm²/seg.

D_0 = factor pre-exponencial, cm²/seg.

E_a = energía de activación, kcal/mol

F_s = coeficiente de actividad media de glicerina en la solución

F_b = coeficiente de actividad media de glicerina en la carne

f_i = fugacidad del componente i, atm.

f_i^0 = fugacidad de referencia del componente i, atm.

\bar{G} = diferencia de capacidades caloríficas del agua como vapor y como líquido,
cal/mol °C

h_g = contenido de humedad por el método gravimétrico, %base húmeda

h_{kf} = contenido de humedad por el método de Karl-Fischer, % base húmeda

I = fuerza iónica, moles/1000 gr. solvente

\bar{J} = diferencia de capacidades caloríficas molales entre el agua líquida y hielo,
cal/mol °C

k = coeficiente global de transferencia de masa, moles soluto/ minutos^{1/2} .
1000 gr. H₂O en la carne

k_{ClNa} = coeficiente global de transferencia de masa para cloruro de sodio,
moles/(min)^{1/2} . 1000 gr. H₂O en la carne

$k_{glic.}$ = coeficiente global de transferencia de masa para glicerina,
moles/(min.)^{1/2} . 1000 gr. H₂O en la carne

k' = coeficiente global de transferencia de masa del método integral, (tiempo)⁻¹

K = constante de Norrish

K_S = constante de equilibrio para cloruro de sodio

K_G = constante de equilibrio para glicerina

l = semi espesor de la muestra, cm.

L_o = calor latente de fusión a la temperatura T_o , cal/mol

L_B = calor latente de ebullición a la temperatura T_B , cal/mol

m_1 = número de kilogramos por mol de agua, kg/mol

m_s = molalidad del cloruro de sodio, moles/1000 gr. H₂O

m_g = molalidad de la glicerina, moles/1000 gr. H₂O

m_n = molalidad del soluto n , moles/ 1000 gr. H₂O

- m_s^0 = molalidad del cloruro de sodio a $t = 0$, moles/1000 gr. H_2O
 m_s^∞ = molalidad del cloruro de sodio a $t = \infty$, moles/1000 gr. H_2O
 m_g^0 = molalidad de la glicerina a $t = 0$, moles/1000 gr. H_2O
 m_g^∞ = molalidad de la glicerina a $t = \infty$, moles/1000 gr. H_2O
 M_t = cantidad absorbida al tiempo t , g./g. sol. carne
 M_∞ = cantidad absorbida al tiempo ∞ , g./g. sol. carne
 n = exponente definido por $k \ l^{-n}$, adimensional
 n_i = número de moles del componente i , moles
 P_1 = presión de la fase 1, atm.
 P_2 = presión de la fase 2, atm.
 r = relación (no-soluto/agua)
 R = constante de los gases ideales, cal/ $^{\circ}K$ mol
 S = constante de proporcionalidad
 s = valor más probable de la constante S
 t = tiempo
 T = temperatura, $^{\circ}K$
 T_1 = temperatura de la fase 1, $^{\circ}C$
 T_2 = temperatura de la fase 2, $^{\circ}C$
 T_f = punto de congelación de la solución, $^{\circ}C$
 T_0 = punto de congelación del agua pura, $^{\circ}C$
 T_{100} = punto de ebullición del agua pura, $^{\circ}C$
 T_θ = punto de ebullición de la solución, $^{\circ}C$
 x = coordenada espacial,
 X_1 = fracción molar del componente 1

X_2 = fracción molar del componente 2

Z_+ = carga del catión, unidades electrónicas

Z_- = carga del anión, unidades electrónicas

Z_M = carga del ión M, unidades electrónicas

Z_X = carga del ión X, unidades electrónicas

\bar{J}_k = flujo del soluto k hacia la fase 1, moles/cm² seg.

\bar{J}_w = flujo del agua hacia la fase 2, moles/cm² seg.

γ_s = coeficiente de actividad media de cloruro de sodio en la solución

γ_n^0 = coeficiente de actividad del soluto n en una solución simple

γ_1^i = coeficiente de actividad del soluto 1 en una solución compleja

γ_2^i = coeficiente de actividad del soluto 2 en una solución compleja

γ_i^i = coeficiente de actividad del soluto i en una solución compleja

γ_1^0 = coeficiente de actividad del soluto 1 en una solución simple

γ_q = coeficiente de actividad media del cloruro de sodio en la carne

μ_i = potencial químico del componente i

$\mu_{w, 1}$ = potencial químico del agua en la fase 1

$\mu_{w, 2}$ = potencial químico del agua en la fase 2

$\mu_{w, fase}$ = potencial químico del agua en la segunda fase

μ_w^0 = potencial químico de referencia para el agua

$\mu_{w, material}$ = potencial químico del agua en el material alimenticio

$\mu_{k, 1}$ = potencial químico del soluto k en la fase 1

$\mu_{k, 2}$ = potencial químico del soluto k en la fase 2

σ_s = desviación standard

ψ = coeficiente osmótico

ν_M = número de iones M

ν_X = número de iones X

ν = número de moles de todas las especies que dan 1 mol de soluto

θ_F = descenso crioscópico, °C

θ_B = ascenso ebulloscópico, °C

Δt = intervalo de tiempo, minutos

ψ = coeficiente de fugacidad

VII - REFERENCIAS

- ACKER, L. W., 1969, "Water activity and enzyme activity". Food Technol. 23, 1257.
- A.O.A.C., 1970, "Official methods of analysis", Assos. Offic. Agr. Chemist's, Washington.
- A.O.C.S., 1973, "Official and tenthative methods of the Americal Oil Chemist's Society".
- BAHER, L.C., 1942. Chem. Ind. 41, 458.
- BAIRD - PARKER, A. C. and FREAME, B., 1967. "Combined effect of water activity, pH and temperature on the growth of Clostridium botulinum from spore and negative cell inocula". J. Appl. Bacteriol. 30 : 420-429.
- BATTOW, G. M. 1966. "Physical Chemistry" 2nd ed. Mc Graw Hill, New York.
- BENMERGUI, E. A., FERRO FONTAN, C. and CHIRIFE, J.. "The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods: I - a_w prediction in simple aqueous electrolyte solutions.
- BIZOT, H. and TOME, D., 1977. "Les aliments a humidite intermediaire", A.P.R.I.A. Serie Synthese Bibliographique, Paris.
- BLAIN, J., HAWTHORN, J. and MUILLEITCH, 1962. "Recent advances in food science processing", Butterwoths, London, 41, 2.
- BLUESTEIN, J. M. and LABUZA, T. P., 1975, "Effects of moisture removal on nutrients". In "Nutritional evaluation of food processing" Ch. XI,

289. AVI Publ. Co., Inc., Westport, Conn..
- BONE, D. P., 1968, "Method of preparing a solid semi-moist marbled meat pet food". U.S. Patent 3,380,832.
- BONE, D. P., 1969, "Water activity - Its chemical and applications". Food Product Development 3, 81.
- BONE, D. P., 1973, "Water activity in intermediate moisture foods". Food Tech. 27, 71.
- BONGIRWAR, D. R. and SREENIVASAN, A., 1977, "Studies on osmotic dehydration of banana". J. of F. Science and Technology, Vol. 14, N^o 3, 104-112.
- BROCKMAN, M. C., 1970, "Development of intermediate moisture foods for military use". Food Technology, 24, 896.
- BROCKMAN, M. C., 1973, "Intermediate moisture foods". Activities Report R and D Assos. for military food and pack systems". 5, 70-77.
- BROMLEY, L. A., 1973, "Thermodynamic properties of strong electrolytes in aqueous solutions". AICHE J. 19 : 313.
- BROWN, W. and CHITUMBO, K. 1975. "Solute diffusion in hydrated polimer networks - Part I. Cellulose gels". J. of the Chem Soc. Faraday Trans. 1, 75 : 1.
- BURVALL, A., ASP, N. G., BOSSON, A., SAN JOSE, C. and DAHLQVIST, A., 1978, "Storage of lactose-hydrolysed dried milk: Effect of water activity on the protein nutritional value". J. Dairy Sci. 45, 381.
- CALHOUN, C. L. and FRAZIER, W. C., 1966. Appl. Microbiol. 14 : 416.

- COLLINS, J. L., CHEN, C. C., PARK, J. R., MUNDT, J. O., Mc CARTY, I. E., 1972, "Preliminary studies on some properties of intermediate moisture deep-fried fish flesh". J. Food Sci., 37, 189.
- CSERI, J., HALIK, J. J. and KAPLOW, M., 1972, "Production of shelf stable rehydratable rice". U.S. Patent 3-655-400.
- CHIRGADZE, Y. N. and DWSEPAYAN, A. M., 1972. "Hydration mobility in peptide structure". Biopolymers 11, 2179.
- CHIRIFE, J., 1978, "Prediction of water activity in intermediate moisture foods". J. Food Technol. 13, 417-424.
- CHIRIFE, J., FERRO FONTAN, C. and BENMERGUI, E. A., 1980, "The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods: IV - a_w prediction in aqueous non electrolyte solutions". J. Food Technol. 15, 59-70.
- CHIRIFE, J., FERRO FONTAN, C. and SCORZA, O. C., 1981, "On the intracellular water activity of bacteria in relation to the water activity of the growth medium". J. of Appl. Bacteriology (in press).
- CHIRIFE, J., SCORZA, O. C., VIGO, M. S., BERTONI, M. H. and CATTANEO, P., 1978, "Preliminary studies on the storage stability of intermediate moisture beef formulated with various water binding agents". J. Food Technol. 14, 421-428.
- CHIRIFE, J., VIGO, M. S., SCORZA, O. C., BERTONI, M. H. and CATTANEO, P., 1980, "Retention of available lysine after long term storage of intermediate moisture beef formulated with various humectants". Lebensm. Wiss. u. Technol. 13, 44-45.

- CHIRIFE, J., FERRO FONTAN, C. and VIGO, S., 1981. "A study of water activity prediction in molasses solutions" (submitted).
- CHIRIFE, J. and FERRO FONTAN, C., 1980 a, "Prediction of water activity of aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods: Experimental investigation of the a_w lowering behavior of sodium lactate and some related compounds". J. Food Sci., 45 : 802-804.
- CHIRIFE, J. and FERRO FONTAN, C., 1980 b, "The water activity of aqueous lactulose solution". Submitted for publication.
- CHOU, H. and BREEN, W., 1972, "Oxidative deterioration of β -carotene in low moisture model systems". J. Food Sci. 37 : 66.
- CHRISTIAN, J. H. B. and INGRAM, M., 1959, "The freezing points of bacterial cells in relation to halophilism". Journal of General Microbiology, 20 : 27.
- CHRISTIAN, J. H. B. and WALTHO, J. A., 1962, b. "The water relations of Staphylococci and Micrococci". J. Appl. Bact. 25, 369.
- CHRISTIAN, J. H. B., 1963, "Water activity and the growth of micro-organisms". In "Recent. Adv. Food Sci." 3, 248. J. M. Leitch and D. N. Rhodes (Ed.) Butterworths London.
- CHRISTIAN, J. H. B. and WALTHO, J. A., 1962, a. "Solute concentrations within cells of halophilic and nonhalophilic bacteria". Biochemistry and Biophysics Acta, 65 : 506.
- CHRISTIAN, J. H. B. and WALTHO, J. A., 1964, "The composition of Staphylococcus aureus in relation to the water activity of the growth medium". J. Gen. Microbiol. 35, 205.

- CHUANG, L. and TOLEDO, R. T., 1976. "Predicting the water activity of multicomponent systems from water sorption isotherms of individual components". J. Food Sci., 41 : 922.
- COLEMAN, J. E. and WHITAKER, J. R., 1974. Food related enzymes. "Advances in Chemistry Series". American Chemistry Society. Washington DC 136, 267.
- CRANK, J., 1956, "The mathematics of diffusion". Oxford University Press.
- DAVIES, R., BIRCH, G. G. and PARKER, K. J., 1976, "Intermediate moisture foods". Applied Science Publishers, London.
- DEL VALLE, F. R. and NICKERSON, J. T. R., 1967 (a), "Studies on salting and drying fish. 1 - Equilibrium considerations in salting". J. Food Sci., 32, 218.
- DEL VALLE, F. R. and NICKERSON, J. T. R., 1967 (b), "Studies on salting and drying fish. 2 - Dynamic aspects of the salting of fish". J. Food Sci., 32, 173.
- DENBIGH, K., 1964, "The principles of chemical equilibrium", Cambridge University Press, Great Britain.
- DENG, J. C., 1977. "Effect of freezing and frozen storage on salt penetration into fish muscle immersed in brine". J. Food Sci., 42 : 348-351.
- DENG, J. C., TOLEDO, R. T. and LILLARD, D. A. 1976, "Effect of temperature and pH on protein-protein interaction in actomyosin solutions". J. Food Sci., 41 : 273.
- DRAFRON, R., 1972, "Reactions enzymatiques en milieu peu hydraté". Annales de Technologie Agricole, 21, 4, 487-499.

- EICHNER, K. and KAREL, M., 1972, "The influence of water activity content and water activity on the sugar-amino browning reaction in model system under various conditions". J. Agric. Fd. Chem. 20, 218.
- EICHNER, D. and CINER-DDRUK, M., 1980, "Formation of browning reaction as affected by water in foods". In "Properties of water related to food quality and stability" E. L. B. Rockland and G. F. Stewart Academic Press, San Francisco.
- ERLANDSON, J. A., and WROLSTAD, R. E., 1972, "Degradation of anthocyanins at limited water concentration". J. Food Sci., 37 : 592.
- FARKAS, D. R. and LAZAR, M. E., 1969, "Osmotic dehydration of apple pieces: Effect of temperature and syrup concentration on rates". Food Technology 23 : 688-690.
- FAVETTO, G. J., CHIRIFE, F. and BARTHOLOMAI. G., 1979, "Determination of moisture content in glycerol-containing intermediate moisture foods". J. Food Sci., 44 : 1258.
- FERRO FONTAN, C., CHIRIFE, J. and BENMERGUI, E. A., 1979, "The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. II - On the choice of the best a_w lowering single strong electrolyte". J. Food Technol. 14, 639-646.
- FERRO FONTAN, C., BENMERGUI, E. A., CHIRIFE, J., 1980. "The prediction of water activity in aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods. III - a_w Prediction in multicomponent strong electrolyte aqueous solutions". J. Food Technol. 15, 47-58.
- FERRO FONTAN, C. and CHIRIFE, J., 1980, "On evaluation of water activity in

- aqueous solutions from freezing point depression". J. Food Technology (in press).
- FLINK, J. M., 1978, "Intermediate moisture food product in the American marketplace". J. of Food Process and Preserv. 2, 324.
- FOX, J. B., 1980, "Diffusion of chloride, nitrite and nitrate in beef and pork". J. of Food Sci., 45, 1740-1744.
- FURIA, T. E., 1972, "Handbook of Food Additives". 2nd ed. CRC Press, Ohio.
- GARCIA, R., MENCHU J. F., ROLZ, C., 1974, "Tropical fruit drying, a comparative study". IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Madrid.
- GONZALEZ, J., ROLZ, C. and MENCHU, J. F., 1973, "Deshidratación de frutas tropicales por ósmosis". Presentado en el seminario avanzado de Tecnología de Alimentos, Bogotá.
- GOULD, G. W. and MEASURES, J. C., 1977. "Water relations in single cells". Phil. Trans. R. Soc. Lond. 278 : 151-166.
- GUERTS T. J., WALSTRA, P. and MULDER, H., 1974, "Transport of salt and water during salting of cheese. 1. Analysis of the processes involved". Neth. Milk Dairy J. 28, 102-129.
- GUGGENHEIM, 1926. Phil. Mag. 2, 538.
- GUSTAFSON, F. G. and COOKE, A. R., 1952, "Oxidation of ascorbic acid to dehydroascorbic acid at low temperatures". Science 116 : 234.
- HAAS, G. J., BENNETT, D., HERMAN, E. B. and COLLETTE, D., 1975. "Microbial stability of intermediate moisture foods". Food Prod. Dev. 9 : 86.
- HAAS, G. J. and HERMAN, E. B., 1978, "Bacterial growth in intermediate moisture

- foods systems". *Lebensm. - Wiss. u. - Technol.*, 11, 74-78.
- HALIK, J. J., 1972. "Pasta process and products". U.S. Patent 3-655-401.
- HAMM, R. 1960. *Adv. Fd. Res.*, 10, 356.
- HARTLEY, 1948. *Biometrika*, 35, 32.
- HEIDELBAUGH, N. and KAREL, M., 1970, "Effect of water-binding agents on the catalized oxidation of methyl linoleate". *J. Am. Oil Chem. Soc.* 47, 539.
- HEIDELBAUGH, N. and KAREL, M., 1975, "Intermediate moisture food technology". In "Freeze Drying and Advanced Food Technology". edited by S. A. Golblith, L. Rey and W. W. Rothmayr, Academic Press.
- HODGMAN, D. D., 1944, "Handbook of Chemistry and Physics". Chem. Rubber Pub. Co., Cleveland, Ohio, U.S.A.
- HOPE, G. W., and VITALE, D. G., 1973, "Osmotic dehydration". International Development Research Centre, Ottawa, Canadá, 10CR-004e.
- IGLESIAS, J. A. and CHIRIFE, J., 1976, "Equilibrium moisture contents of air dried beef. Dependence on drying temperature". *J. Food Technol.* 11, 565.
- INSALATA, N. F., 1972. "The technical microbiological problems in intermediate moisture products". *Fd. Prod. Dev.* 6 (5), 72-76.
- INTERNATIONAL CRITICAL TABLES, 1926, Mc Graw Hill, New York City.
- JOHNSON, R. G., SULLIVAN, D. B., SECRIST, J. L. and BROCKMAN, M. C., 1972, "The effect of high temperature storage on the acceptability and stability of intermediate moisture foods". U.S. Army, Natick Lab., Technical Report 72-76-FL.

- KAPLOW, M., 1970, "Commercial development of intermediate moisture foods".
Food Technol., 24, 889-893.
- KAPLOW, M., and HALIK, J. J., 1972, "Stabilization of combined foods and
liquids". U.S. Patent 3-694-233, Sep. 26.
- KAPLOW, M. and KLOSE, R. E., 1972, "Shelf stable egg products". U.S. Patent
3-640-731.
- KAREL, M. and LABUZA, T. P., 1968, "Non- enzymatic browning in model systems
containing sucrose". J. Agric. Food Chem., 16, 717.
- KAREL, M., 1973, "Recent research and development in the field of low moisture
and intermediate moisture foods". CRC Crit. Rev. Food Technol.
3 : 329.
- KAREL, M., 1973, Symposium: Protein Interactions in Biosystems. Protein-
Lipid Interactions. J. Food Sci., 38 : 756-763.
- KAREL, M., 1975, "Stability of low and intermediate moisture foods". In
"Freeze drying and advanced Food Technology". Academic Press.
- LABUZA, T. P., TANNENBAUM, S. R. and KAREL, M., 1970, "Water content and
stability of low moisture and intermediate moisture foods". Food
Technol. 24, 543.
- LABUZA, T. P., 1971, "Kinetics of lipid oxidation in foods", CRC, Crit. Revs.
Food Technol. 2, 355-401.
- LABUZA, T. P., CASSIL, S. and SINSKEY, A. J., 1972, "Stability of intermediate
moisture foods. II-Microbiology". J. Food Sci., 37 ; 160.
- LABUZA, T. P., Mc NALLY L., GALLAGHER, D., HAWKES, J. and HURTADO, F., 1972,
"Stability of intermediate moisture foods. I.-Lipid oxidation".

- J. Food Sci. 37 : 174.
- LABUZA, T. P., 1972, "Nutrient losses during drying and storage of dehydrated foods". Crit. Rev. Food Technol., 2 : 217.
- LABUZA, T. P., WARREN, R. and WARMBIER, J., 1977. "The physical aspects with respect to water and non-enzymatic browning". Adv. Exp. Med. Biol. 86 B, 379.
- LABUZA, T. P., SHAPERD, M. and KARMAN, J., 1978, "Prediction of nutrient losses". J. of Food Processing and Preservation 2, 91-99.
- LABUZA, T. P. and SALTMARCH, M., 1980, "The non enzymatic browning reaction as affected by water in foods". In "Properties of Water Related to Food Quality and Stability", Ed. L. B. Rockland and G. F. Stewart. Academic Press, San Francisco.
- LEA, C. H., 1951, "Non enzymatic browning XXXVII Text of papers". Second Intl. Congress on Canned Foods, Paris, P. 1.
- LEE, S. and LABUZA, T. P., 1975, "Destruction of ascorbic acid as a function of water activity". J. Food Sci. 40, 320.
- LEISTNER, L. and RODEL, W., 1975, "The significance of water activity for microorganisms in meats". In "Water relations of foods" p. 309, ed. R.B. Duckworth, Academic Press, London, New York, San Francisco.
- LERICI, C. R., PEPE, M., and PINNAVAIA, G., 1977, "La desidratazione della frutta mediante osmose diretta: I - Risultati di esperienze effettuate in laboratorio". Industria Conserve 2, 125-129.
- LONCIN, M., BIMBENET, J. J. and LENGES, K. J., 1968, "Influence of the activity of water on the spoilage of foodstuffs". J. Food Technol. 3, 131.

- LUNDBERG, W. D., 1961, "Autoxidation and antioxidants". Vol. I Chapter II and X. J. Wiley and Sons, New York.
- MALONEY, J. F., LABUZA, T. P., WALLACE, D. J. and KAREL, M., 1966, "Autoxidation of methyl linoleate in freeze dried model systems. I - Effect of water on the autocatalyzed oxidation". J. Food Sci. 31, 878.
- MANGELDORF, P. C., 1959. J. Appl. Phys. p. 442.
- MARSHALL, B. J., OHYE, D. R. and CHRISTIAN, J. H. B., 1971. Appl. Microbiol. 21 : 363.
- MARTIN, H. F., 1958, "Factors in the development of oxidative rancidity in ready to-eat crisp oatflakes". J. Sci. Food Agric. p. 817.
- MATZ, S. A., 1965, "Water in foods". p. 249 Westport, Connecticut, The AVI Publishing Company, Inc..
- MEASURES, J. C. and GOULD, G. W., 1976, "Interactions of microorganisms with the environment of intermediate moisture foods". In "Intermediate moisture foods" edited by R. Davies, G. G. Birch and K. J. Parker. Applied Sci., Pub. Essex, U.K.
- MIRACCO, J. L., ALZAMORA, S. M., CHIRIFE, J. and FERRO FONTAN, C., 1981, "The water activity of lactose solutions (submitted)".
- NIJPELS, H. H., EVERS, P. H., NOVAK, G. and RAMET, J. P., 1980, "Application of cryoscopy for the measurement of enzymatic hydrolysis of lactose". J. Food Sci., 45, 1684.
- NEARLE, R. J., OBANU, Z. A., RIGGIN, R. J., LEDWARD, D. A. and LAWRIE, R. A., 1978. "Protein quality and iron availability of intermediate

moisture beef stored at 38°C". Annales de la Nutrition et de l'Alimentation, 32, 587.

NORRISH, R. S., 1966, "An equation for the activity coefficient and equilibrium relative humidities of water in confectionary syrups". J. Food Technol., 1, 25.

OBANU, Z. A., LEDWARD, D. A. and LAWRIE, R. A., 1975, "The protein of intermediate moisture meat at tropical temperature: 1 - Changes in solubility and electrophoretic pattern". J. Food Technol. 10, 657.

PAUL, M. H. and BRATZLER, L. J., 1955. Food Res. 20, 626.

PAVERY, R. L., and SCHNACK, W. R., 1969, "Formulation of intermediate moisture bite-size food cubes", U.S.A.F. School of Aerospace Medicine Technical Report on Contract. F41609-67-C-0054.

PAVERY, R. L., 1972, "Controlling the amount of internal aqueous solution in intermediate moisture foods". United States Army, Natick Lab., Technical Report 73-17-FL.

PERRY, J. H., 1963, "Chemical Engineers Handbook", 3rd edition Mc Graw Hill Book Co.

PFLUG, I. J., FELLERS, P. J. and GUREVITZ, D., 1967. "Diffusion rates in the desalting of pickles". Food Technol. 21 : 1634.

PITZER, K. S., 1973, J. of Physical Chem. 77, 268.

PLITMAN, M., PARK, Y., GOMEZ, R. and SINSKEY, A. J., 1973. "Viability of Staphylococcus aureus in intermediate moisture foods". J. Food Sci. 38 : 1004.

- PONTING, J. D., WALTERS, G. G., FORREY, R. R., JACKSON, R. and STANLEY, W. L., 1966, a. "Osmotic dehydration of fruit". Food Technol. 20 (10) : 125.
- POTTER, N. N., 1970, "Intermediate moisture foods: Principles and technology". Food Product Dev. 4 (7) : 38.
- POTHAST, K., HAMM, R. and ACKER, L., 1975. "Enzymic reaction in low moisture foods". In "Water relations of foods" (R. B. Duckworth, ed.) pp. 365-378. Academic Press, New York.
- PRAUSNITZ, J. M., 1969, "Molecular thermodynamics of fluid-phase equilibria". Prentice-Hall Englewood Cliffs, N. Y..
- QUINN, F. C., 1967, "The quality of water-the other raw material". Paper Trade J. 151 (36) : 40.
- REED, G., 1966. In "Enzymes in Food Processing" Academic Press, New York.
- ROBINSON, R. A. and STOKES, R. M. 1965, "Electrolyte solutions", 2nd edition, revised, Butterworths, London.
- ROCKLAND, L. B., SWARTHOUT, D. M. and JOHNSON, R. A., 1961, "Studies on English (Persian) walnuts, *Juglans regia* III Stabilization of kernels food 15 : 112.
- ROCKLAND, L. B. and NISHI, S. K., 1980, "Influence of water activity on food product quality and stability". Food Technol., 42.
- ROSS, K. D., 1975, "Estimation of water activity in intermediate moisture foods". Food Technol. 29, 26.
- SANKARAN, R. and LEELA, R. K., 1979, "Survival of microorganisms in intermediate moisture foods". J. of Food Sci. and Technol., 16 (3):100.

- SCHULTZ, H. W., DAY, E. and SINNHUBER, R. O., 1962. "Lipids and their oxidation". AVI Publ. Co. Port West Chapters 3, 4, 5, 6 and 7, Conn..
- SCOTT, W. J., 1953, "Water relations of Staphylococcus aureus at 30°C", Avst J. Biol. Sci. 6, 549.
- SCOTT, W. J., 1957, "Water relations of food spoilage microorganisms". Adv. Food Res., Vol VII, 83. Academic Press, New York.
- SINSKEY, A. J., 1976, "New developments in intermediate moisture foods: Humectants". In "Intermediate moisture foods", p. 260-280. Applied Science Publishers.
- SKUJINS, J. J. and Mc LAREN, A. D., 1967, "Enzyme reaction rates at limited water concentration". J. Food Sci. 37 : 592.
- SLOAN, A. E. and LABUZA, T. P., 1975, "Investigating alternative humectants for use in foods". Food Prod. Dec. 9, 75.
- SLOAN, A. E. and LABUZA, T. P., 1976, "Prediction of water activity lowering ability of food humectants at high a_w ". J. Food Sci. 41, 532-535.
- SWINBOURNE, E. S., 1960. "Method for obtaining the rate coefficient and final concentration of a first-order reaction". J. Chem. Soc. p. 2371.
- SZULMAYER, W., 1969, "Humidity and moisture measurement". CSIRO. Food Preserv. Quarterly 29 (2) : 27.
- TROLLER, J. A., 1972, "Effect of a_w enterotoxin A production and growth of Staphylococcus aureus". Appl. Microbiol. 24, 440.
- TROLLER, J. A. and CHRISTIAN, J. H. B., 1978, "Water activity and food". Academic Press, New York.

- TROLLER, J. A., 1979, "Food spoilage by microorganisms tolerating low- a_w environments". Food Technology, 72.
- TROLLER, J. A. 1980, "Influence of water activity on microorganisms found in foods". Food Technology.
- VACCAREZZA, L. M., LOMBARDI, J. L. and CHIRIFE, J. 1974, "Kinetics of moisture movement during air drying of sugar beet root". J. of Food Technol. 9, 317-327.
- VAN MOSEL, D. A. A., and KUIJK, H. J. L., 1955, "A new a simple technique for direct determination of the equilibrium relative humidity of foods". Food Res. 20 : 415.
- VIGO, M. S., CHIRIFE, J., SCORSA, O. C., CATTANEO, P., BERTONI, H. and SARRAILH, P., Estudios sobre alimentos tradicionales de humedad intermedia elaborados en la Argentina. Determinación de a_w , pH, humedad y sólidos solubles. Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (en prensa).
- WALETZKO, P. and LABUZA, T. P., 1976, "Accelerated shelf life testing of an intermediate moisture foods". Journal of Food Sci., 41, 1338.
- WARBURTON, S. and PIXTON, S. W., 1975, "The effect of the addition of glycerol on the moisture content/equilibrium relative humidity relationship of whetted". J. Stored Prod. Res. 11, 107.
- WARMBIER, H. C., SCHNISKELS, R. A. and LABUZA, T. P., 1976, "Effect of glycerol on non enzymatic browning in a solid intermediate moisture model food system". J. Food Sci., 41, 528.
- WIERBICKI, E., KUNKLE, L. E., CAHILL, V. R., and DEATHERAGE, F. G., 1954.

Food Tech. 8, 506.

WILLIAMS, J. C., 1976, "Chemical and non enzymatic changes in intermediate moisture foods". In "Intermediate moisture foods". Applied Science Publishers.

YORK, D., 1966, "Least squares fitting of a straight line". Can. J. of Physics, 44, 1079.

ZUGARRAMURDI, A. and LUPIN, H. M., 1976, Estudio sobre el salado de anchoíta. I - Equilibrio y perfiles de concentración. Latin Am. J. of Chem. Engng. and App. Chem. 6, 79.

ZUGARRAMURDI, A. and LUPIN, H. M., 1977, Estudio sobre el salado de anchoíta. II - Dinámica del Proceso. Latin Am. J. of Chem. Engng. and App. Chem. 7, 25.

ZUGARRAMURDI, A. and LUPIN, H. M., 1980, "A model to explain observed behavior on fish salting". J. Food Sci. 45 : 1305.

ZARB, J. M., and HOURIGAN, J. A., 1979, "An enzymatic, cryoscopic method for the estimation of lactose in milk products". The Australian J. of Dairy Technol. December, p. 184.