

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA
Departamento de Nutrición y Bromatología I



**DESARROLLO DE REESTRUCTURADOS CÁRNICOS
POTENCIALMENTE FUNCIONALES MEDIANTE LA
INCORPORACIÓN DE NUEZ**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

M^a Asunción Serrano Agulló

Bajo la dirección de los doctores:
Francisco Jiménez Colmenero y Susana Cofrades Barbero

Madrid, 2006

- **ISBN: 978-84-669-2893-9**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA I



**DESARROLLO DE REESTRUCTURADOS CÁRNICOS
POTENCIALMENTE FUNCIONALES MEDIANTE LA
INCORPORACIÓN DE NUEZ.**

Memoria presentada por M^a Asunción Serrano Agulló para optar al grado de
Doctor por la Universidad Complutense de Madrid.

**Bajo la dirección del Dr. Francisco Jiménez Colmenero y de la Dra. Susana
Cofrades Barbero, actuando como tutora la Dra. Ángeles Carbajal Azcona.**



INSTITUTO DEL FRÍO
Madrid, Febrero de 2006.



FRANCISCO JIMENEZ COLMENERO, DR. EN CIENCIAS QUÍMICAS,
PROFESOR DE INVESTIGACIÓN Y SUSANA COFRADES BARBERO, DRA. EN
FARMACIA, CIENTÍFICO TITULAR DEL INSTITUTO DEL FRÍO DEL
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS,

CERTIFICAN: que el presente trabajo titulado "Desarrollo de reestructurados
cárnicos potencialmente funcionales mediante la
incorporación de nuez", y que constituye la Memoria que
presenta la Licenciada M^a Asunción Serrano Agulló para optar al
grado de Doctor, ha sido realizada en el Instituto del Frío del
CSIC bajo nuestra dirección. Así mismo, en el marco del proceso
de evaluación requerido, damos nuestro consentimiento para su
presentación en la Universidad Complutense de Madrid.

Para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente
Certificado en Madrid a catorce de febrero de dos mil seis.

Dr. Francisco Jiménez Colmenero

Dra. Susana Cofrades Barbero

El trabajo de investigación que ha dado origen a esta memoria ha sido realizado en el "Departamento de Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos y del Pescado y Productos de la Pesca" del Instituto del Frío (CSIC), al amparo del proyecto AGL2001-2398-C03-01. Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I). Ministerio de Ciencia y Tecnología. Agradecer al Ministerio de Ciencia y Tecnología la concesión de la beca CSIC, REF.: I3P- BPD 2001-1.

A Mis Padres.

Sólo hay una cosa que hace que un sueño sea imposible: el miedo a fracasar.

El Alquimista (Paulo Coehlo).

**No os obstinéis en descubrir algo práctico.
Si no lo conseguís, los que os siguen lo lograrán.
Vosotros sólo preocuparos por indagar y soñar.**

John D. Rockefeller, 1901.

AGRADECIMIENTOS.

Durante estos meses de escritura son muchas las veces que he intentado comenzar con este apartado, sin embargo, no ha sido hasta esta noche de domingo (22 de enero de 2006), cuando realmente me he sentido motivada para realizarlo. Esto ha sido porque sinceramente creo que es la parte más difícil de escribir y es así por varios motivos. En primer lugar, porque es mucha la gente que espera para leerla, y de ellos voy a obtener las críticas más importantes. En segundo lugar, creo que esta es la única parte que todo mundo, con absoluta seguridad, leerá de la Tesis, y por ello son muchas las opiniones que puede originar. Y en tercer lugar, porque espero que con ella pueda llegar a transmitir a todos mi agradecimiento y cariño en su justa medida.

Para comenzar, quiero realizar un agradecimiento especial a mis directores de Tesis, al Doctor Francisco Jiménez Colmenero y a la Doctora Susana Cofrades Barbero, por haberme dado esta oportunidad, junto a la dedicación de su tiempo y esfuerzo para que este trabajo llegara a su culminación. En segundo lugar, quiero agradecer al Doctor José Carballo Santaolalla, por la ayuda brindada sobre todo durante las duras y áridas horas transcurridas en planta piloto. Asimismo, quiero agradecer a la Doctora Claudia Ruiz Capillas su colaboración e importante aportación al trabajo realizado en esta Tesis y muy especialmente por su apoyo.

También quisiera agradecer a las Doctoras M^a Teresa Solas Alados y Begoña Olmedilla Alonso el importante trabajo aportado a esta Tesis. Además, quiero hacer llegar un agradecimiento muy especial a la Doctora Ángeles Carbajal Azcona, por su ayuda, información e interés prestados durante la tutela de este trabajo.

El siguiente párrafo lo quiero dedicar a toda la gente del Departamento de Carnes y Pescados del Instituto del Frío, tanto a los que actualmente están como a los que durante estos cuatro años han formado parte de él en algún momento. A los compañeros que día a día han ido viviendo el progreso de mí trabajo, y me han brindado su valioso apoyo y consejo en todo momento. Como me es imposible citarlos a todos uno por uno sin olvidar algún nombre, prefiero simplemente decirlos ¡Gracias a todos!. Pero sobre todo y en especial, quiero agradecerles a mis “*compis*”, los que tanto me han apoyado, animado, ayudado y soportado, el haberme demostrado su amistad y

cariño tanto en los buenos, como en los malos momentos. Ellos son “de mayor a menor edad...”: Oscar, Bego, Ara, Ali, David, Tany, Joaquín, Pilar Aller, Fátima y Cris Q. Un agradecimiento destacado por su importante aportación, lectura, opinión y amistad, quiero dedicarlo a Ara, Joaquín y Fátima (que no por ser la última se lo agradezco en menor medida), también a Bego, que a pesar de la distancia la tecnología me ha acercado su presencia en todo momento. A Cris Q. una mención muy especial por sus valiosos *consejos*. Y a David por su ayuda y aportación en el campo de la informática.

Fuera del grupo de trabajo quisiera agradecer muy especialmente a Bea y Carmen su apoyo, ayuda, comprensión, ánimo, amistad, en definitiva, por tanto como hemos vivido. Y a mis amigos/as Ángela, Isa, José, Azucena, Nuria, Heli, Cris Marín, Yoli, Cristina Moreno y Begoña por los buenos momentos compartidos y por vuestro ánimo y apoyo.

Pero el más especial e importante de los agradecimientos va dedicado a mi familia, por haber soportado tanto tiempo sin vernos, pero sin embargo, haberme hecho llegar vuestra presencia, cariño y apoyo en la distancia. Principalmente a mis padres (Paco y Filomena) porque sois el principio de todo, no tengo palabras para agradecer esto y tanto como habéis hecho por mi siempre. Además, a mi hermano y mis dos hermanas, que dejaron de ser tres y ahora tengo el doble de hermanos (Paca y Roberto, Belí y José Ramón, Pepe y Encarna). Pero sobre todo, estoy muy agradecida a mis sobrinos, por que son mi razón de ser y el motor de mi vida, en definitiva, lo que más quiero en este mundo: Héctor, Laura, Francisco, Isabel, Carla y (espero pronto poder cubrir los puntos suspensivos).

Aquí termino este apartado, esperando haber transmitido mi más sincero agradecimiento a todos. A pesar de saber que no son todos los que están, estoy totalmente segura de que todos los que están aquí citados *son*. A todos los que sois y habéis sido parte de esta dura pero a la vez bonita etapa de mi vida, **¡GRACIAS!**

ÍNDICE.

A.- ABREVIATURAS.....	A
I.- INTRODUCCIÓN.....	1
I.1.- RELACIÓN DIETA Y SALUD.....	3
I.2.- ALIMENTOS FUNCIONALES.....	8
I.2.1.- Origen y concepto.....	8
I.2.2.- Factores que impulsan el desarrollo de los alimentos funcionales.....	11
I.2.3.- Regulación de los alimentos funcionales.....	12
I.2.4.- Alimentos potencialmente funcionales en el mercado español.....	14
I.3.- LA INDUSTRIA CÁRNICA EN ESPAÑA.....	16
I.4.- IMPORTANCIA DE LA CARNE EN LA DIETA.....	19
I.5.-IMPLICACIONES DE LOS COMPONENTES DE LA CARNE Y LOS PRODUCTOS CÁRNICOS EN LA SALUD.....	20
I.5.1.- Componentes endógenos de la carne.....	21
I.5.1.1.- Agua.....	22
I.5.1.2.- Proteínas, péptidos y aminoácidos.....	22
I.5.1.3.- Lípidos.....	25
I.5.1.4.- Minerales.....	29
I.5.1.5.- Vitaminas.....	32
I.5.1.6.- Otros componentes.....	35
I.5.2.- Componentes no cárnicos incorporados durante la elaboración de productos cárnicos.....	36
I.5.3.-Componentes desarrollados durante la elaboración, conservación y comercialización de la carne y productos cárnicos.....	38
I.6.- ESTRATEGIAS PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS MÁS SALUDABLES.....	42
I.6.1.- Estrategias genéticas y nutricionales.....	42
I.6.2.- Estrategias tecnológicas para optimizar la composición de los productos cárnicos.....	44
I.6.2.1.- Reducción y/o eliminación de compuestos con implicaciones negativas para la salud.....	45
I.6.2.1.1.- Grasa y calorías.....	45
I.6.2.1.2.- Sodio.....	46
I.6.2.1.3.-Nitritos.....	46

I.6.2.1.4.-Eliminación de alergenosen.	48
I.6.2.2.-Incorporación de compuestos con implicaciones positivas para la salud.	48
I.6.2.2.1.-Lípidosen.	49
I.6.2.2.2.-Proteínas, péptidos y aminoácidos.	49
I.6.2.2.3.-Prebióticos, probióticos y simbióticos.	51
I.6.2.2.4.-Antioxidantes.	52
I.6.2.2.5.-Minerales.	53
I.6.2.2.6.-Fitoesterolen.	53
I.6.2.2.7.-Fitoestrógenosen.	53
I.6.2.2.8.-Otroscorponentesen.	54
I.7.- IMPLICACIONES DE LOS COMPONENTES BIOACTIVOS DE LAS NUECES EN LA SALUD.	55
I.8.- REESTRUCTURADOS CÁRNICOS.	59
I.8.1.- Productos reestructurados: ventajas y posibilidades.	59
I.8.2.- Elaboración de reestructurados cárnicos.	61
I.8.2.1.- Preparación de la materia prima cárnica.	62
I.8.2.2.- Reducción del tamaño de la materia prima cárnica.	62
I.8.2.3.- Mezclado de los ingredientes.	63
I.8.2.4.- Moldeado del producto.	64
I.8.2.5.- Tipos de cárnicos reestructurados según la presentación final.	64
I.8.3.- Factores que afectan a la calidad de los reestructurados cárnicos durante el proceso de elaboración.	66
I.8.3.1.- Factores asociados a la composición de los productos reestructurados. ..	66
I.8.3.2.- Factores tecnológicos.	68
I.8.3.2.1.-Tamaño de la partícula cárnica.	68
I.8.3.2.2.-Temperatura del proceso.	69
I.8.3.2.3.-Tiempo de mezclado.	69
I.8.3.2.4.-Factores implicados en la solubilidad de las proteínas.	69
I.8.3.2.4.1.- Métodos físicos.	70
I.8.3.2.4.2.- Métodos químicos.	70
I.8.4.- Análisis de la calidad de los reestructurados cárnicos.	70
I.8.4.1.- Análisis de los factores tecnológicos.	72
I.8.4.1.1.-Propiedades ligantes de agua y grasa.	72
I.8.4.1.2.-Cambio dimensional debido al tratamiento térmico.	72

I.8.4.1.3.-Medida objetiva del color.....	72
I.8.4.1.4.-Determinación instrumental de la textura.....	73
I.8.4.1.5.-Microestructura.....	74
I.8.4.2.- Análisis de los factores sensoriales.....	74
I.8.4.3.- Análisis de los factores higiénicos.....	75
I.8.4.4.- Análisis de los factores nutritivos.....	75
I.8.4.5.- Análisis de los factores saludables.....	76
I.9.- REESTRUCTURADOS CÁRNICOS CON NUEZ.....	77
II.- OBJETIVOS Y DISEÑO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL.....	79
II.1.- PREMISAS.....	81
II.2.- HIPOTESIS.....	83
II.3.- OBJETIVOS.....	84
II.4.- DISEÑO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL.....	85
III.- TRABAJO EXPERIMENTAL.....	89
SECCIÓN I. DESARROLLO DE FILETES REESTRUCTURADOS CON NUEZ: INFLUENCIA DE FACTORES DE COMPOSICIÓN Y TECNOLÓGICOS.....	91
RESUMEN DE LOS CAPÍTULOS.....	93
Capítulo I.1. Características físico-químicas y sensoriales de filetes reestructurados de vacuno con nuez incorporada. “ <i>Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts</i> ”.....	99
Capítulo I.2. Influencia de diferentes tamaños de partícula cárnica sobre reestructurados de vacuno elaborados con distintas concentraciones de nuez. “ <i>Restructured beef with different proportions of walnut as affected by meat particle size</i> ”.....	109
Capítulo I.3. Transglutaminasa como agente ligante de filetes reestructurados frescos de vacuno con nuez incorporada. “ <i>Transglutaminase as binding agent in fresh restructured beef steak with added walnuts</i> ”.....	119
SECCIÓN II. PERFIL NUTRICIONAL.....	129
RESUMEN DEL CAPÍTULO.....	131
Capítulo II.1. Perfil nutricional de filetes reestructurados de vacuno con nuez incorporada. “ <i>Nutritional profile of restructure beef steak with added walnuts</i> ” . .	133

SECCIÓN III. ESTABILIDAD DURANTE LA CONSERVACIÓN	143
RESUMEN DE LOS CAPÍTULOS.....	145
Capítulo III.1. Aminas biógenas en productos reestructurados, en función de la presencia de nuez y la conservación en refrigeración. “ <i>Biogenic amines in restructured beef steaks as affected by added walnuts and cold storage</i> ”.....	149
Capítulo III.2. Características de filetes reestructurados de vacuno con diferentes proporciones de nuez durante la conservación en congelación. “ <i>Characteristics of restructured beef steak with different proportions of walnut during frozen storage</i> ”.....	155
IV.- DISCUSIÓN INTEGRADORA	165
IV.1.-DESARROLLO DE FILETES REESTRUCTURADOS CON NUEZ: INFLUENCIA DE FACTORES DE COMPOSICIÓN Y TECNOLÓGICOS.....	168
IV.2.- PERFIL NUTRICIONAL.....	180
IV.3.- ESTABILIDAD DURANTE LA CONSERVACIÓN.....	187
V.- CONCLUSIONES	197
VI.- BIBLIOGRAFÍA	201
VII.- ANEXOS	227

A.- ABREVIATURAS.

A.- ABREVIATURAS.

ADA: American Dietetic Association.

a. C.: antes de Cristo.

ARA: ácido araquidónico.

BHA: butilhidroxianisol.

BHT: butilhidroxitolueno.

BNF: British Nutrition Foundation.

BS: fuerza de ligazón.

CLA: ácido linoleico conjugado.

CL: pérdidas de peso por cocción.

cm: centímetro.

DHA: ácido docosahexanoico.

ECV: enfermedades cardiovasculares.

EE.UU.: Estados Unidos.

ENNA-3: Estudio Nacional de Nutrición y Alimentación-3.

EPA: ácido eicosapentanoico.

FDA: Food Drugs Administration.

FOSHU: Foods for specified health use.

FUFOSE: Functional Food Science Europe.

g: gramo.

HDL: lipoproteína de alta densidad.

h: hora.

ILSI: International Life Science Institute.

IR: ingesta recomendada para la población española.

kcal: kilocaloría.

kg: kilogramo.

KSF: fuerza máxima de corte.

LA: ácido linoleico.

LDL: lipoproteína de baja densidad.

LNA: ácido α -linolénico.

MAPA: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

mg: miligramo.

mm: milímetro.

MTG: transglutaminasa microbiana.

MUFA: ácidos grasos monoinsaturados.

N: Newton.

NAOS: Estrategia para la Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad.

OMS (WHO): Organización Mundial de la salud.

PUFA: ácidos grasos poliinsaturados.

RDA: ingesta recomendada para la población americana.

SENC: Sociedad Española de Nutrición Comunitaria.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

STP: tripolifosfato sódico.

SFA: ácidos grasos saturados.

USDA: United States Department of

Tm: tonelada.

Agriculture.

UE: Unión Europea.

I.- INTRODUCCIÓN.

I.- INTRODUCCIÓN.

I.1.- RELACIÓN DIETA Y SALUD.

Según un reciente informe elaborado por expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), denominado “*Dieta, nutrición y prevención de las enfermedades crónicas*”, uno de los principales problemas de salud pública de los países desarrollados es el relacionado con el enorme crecimiento que están teniendo las enfermedades crónicas no transmisibles, entre las cuales se encuentran las enfermedades cardiovasculares (ECV), obesidad, diabetes tipo 2 (mellitus), algunos tipos de cáncer (colon, etc.), osteoporosis, etc. (OMS, 2003). Según este informe, dichas enfermedades originaron en el año 2001 alrededor del 60 % de las muertes en los países desarrollados y de estas casi la mitad fueron debidas a ECV (15,3 millones) (Figura I.1). Asimismo, la obesidad y el sobrepeso (junto con las enfermedades que conllevan: cardiopatías, hipertensión, dislipemias, accidentes cerebrovasculares y diabetes tipo 2) se consideran que han alcanzado carácter de epidemia a nivel mundial, ya que 1.000 millones de personas adultas tienen sobrepeso y de ellas, al menos 300 millones son obesas.

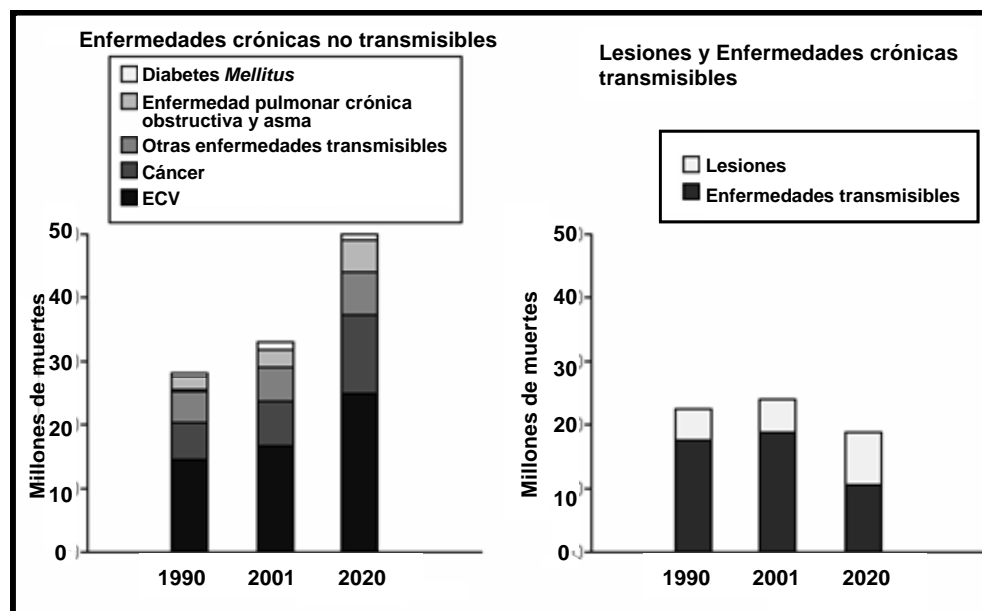


Figura I.1. Evolución de las enfermedades crónicas no transmisibles en el mundo (Murray & López, 1996; OMS, 2003).

Entre los factores ambientales, y por tanto modificables, implicados en el desarrollo de estas enfermedades están ciertas características de la dieta actual como su

mayor densidad energética y elevada cantidad de sal, junto a una disminución en la ingestión de hidratos de carbono complejos y fibra, debido al bajo consumo de frutas y verduras (Drewnowski & Popkin, 1997; OMS, 2003). Este cambio en los hábitos alimentarios se combina con el nuevo estilo de vida, resultante de la industrialización, la urbanización y el avance tecnológico y económico, originando una reducción de la actividad física (Ferro-Luzzi & Martino, 1996; OMS, 2003).

Según diversos estudios, en el área mediterránea se produce la menor incidencia de infarto de miocardio (Martínez-González *et al.*, 2002; Bilenko *et al.*, 2005). Asimismo, la dieta mediterránea, ha demostrado que disminuye la tasa de incidencia de ECV, diabetes tipo 2, obesidad, hipertensión arterial y algunos tipos de cáncer (Martínez-González *et al.*, 2002). Por ello, el concepto de dieta mediterránea ha adquirido una gran popularidad en los últimos años. No obstante, dicho concepto no constituye una dieta única sino un conjunto de ellas que se caracterizan por el elevado consumo de pescado, cereales (pan o pasta, arroz), frutas, verduras y aceite de oliva, pero principalmente comparten dos características (Tabla I.1): el adecuado aporte calórico de los macronutrientes y la calidad de la grasa ingerida (León & Castillo, 2002).

Basándose en diversas consideraciones entre las que se encuentran las anteriormente expuestas, la OMS (2003) ha establecido una serie de objetivos para la ingesta de nutrientes con el fin de que se establezcan recomendaciones de carácter específico para la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. Como se puede apreciar en la tabla I.1, dichas recomendaciones se encuentran muy próximas a los aportes típicos de la dieta mediterránea. Estos objetivos están siendo considerados por diversos organismos nacionales, como la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC), para establecer sus recomendaciones nutricionales.

Tabla I.1. Objetivos de ingesta de nutrientes específicos (% total de energía, a menos que se establezca otra cosa), para la población mundial (OMS, 2003) y española (SENC, 2005), comparados con la dieta mediterránea típica (Paneras *et al.*, 1998; León & Castillo, 2002).

Factor dietético	OMS	SENC	Dieta Mediterránea
Grasa total	15-30 %	30-35 %	30 %
Ácidos grasos saturados (SFA ¹)	< 10 %	7-8 %	7-10 %
Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA ¹)	6-10 %	5 %	6-8 %
PUFA n-6	5-8 %	-	6 %
PUFA n-3	1-2 %	2 g LNA ² 200 mg DHA ³	-
Relación n-6/n-3 ⁴	< 4:1	-	-
Ácidos grasos <i>trans</i>	< 1 %	-	0,5-0,7 % ⁵
Ácidos grasos monoinsaturados (MUFA ¹)	-	-	-
	< 10-15 %	15-20 %	15-20 %
Colesterol	< 300 mg/día	< 300 mg/día	Bajo consumo grasa animal
Hidratos de carbono totales	55-75 %	50-55 %	53-58 %
Azúcares libres	< 10 %	< 4 alimentos azucarados/día	Consumo bajo
Proteínas	10-15 %	12-15 %	10-12 %
Cloruro Sódico (Sodio)	< 5 g/día (< 2 g/día)	< 6 g/día	-
Frutas y verduras	≥ 400 g/día	> 400 g/día	Consumo elevado
Fibra alimentaria total (en alimentos)	> 25 g/día	> 25 g/día	Consumo elevado

¹ Las abreviaturas para los ácidos grasos proceden de la denominación inglesa, debido a que son las empleadas en la correspondiente publicación (Capítulo II.1) y en la discusión integradora.

² LNA, Ácido α -linolénico (C18:3 n-3).

³ DHA, Ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3).

⁴ Gibney, 1993; USDA, 2000.

⁵ Estudio TRANSFAIR (Van de Vijver *et al.*, 2000).

Para aproximarse a tales objetivos, la OMS ha planteado una serie de consideraciones nutricionales específicas que se recogen en un documento denominado “Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud” (OMS, 2004),

en el cual se establecen entre otras, recomendaciones con respecto a la dieta y actividad física de la población, ciertos criterios a tener en cuenta por la industria para la elaboración de sus productos (Tabla I.2), así como incentivos para la comercialización y producción de alimentos más saludables.

Tabla I.2. Principales recomendaciones con respecto a la dieta y recomendaciones generales a tener en cuenta por la industria para la elaboración de sus productos (OMS, 2004).

Recomendaciones para la población en general:

- Lograr un equilibrio energético y un peso normal.
- Limitar la ingesta energética procedente de las grasas, sustituir las grasas saturadas por grasas insaturadas y tratar de eliminar los ácidos grasos *trans*.
- Aumentar el consumo de frutas y hortalizas, así como el de legumbres, cereales integrales y frutos secos.
- Limitar la ingesta de azúcares libres.
- Limitar la ingesta de sal (sodio) de cualquier procedencia y consumir sal yodada.

Recomendaciones para la industria:

- Reducir la grasa saturada, ácidos grasos *trans*, azúcares libres y sal de los productos elaborados. Además de crear un etiquetado eficiente de sus productos, que proporcione la información adecuada y comprensible sobre nutrición.
 - Adoptar prácticas de comercialización responsable, en especial con los alimentos citados anteriormente, particularmente los dirigidos a los niños.
-

En España, tales recomendaciones han dado lugar a un documento denominado *Estrategia para la Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad (NAOS)* (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2005), que tiene como finalidad mejorar los hábitos alimentarios e impulsar la práctica regular de la actividad física de todos los ciudadanos, poniendo especial atención en la prevención y educación durante la etapa infantil. Los ámbitos de intervención de la *Estrategia NAOS* son muy diversos: familiar, comunitario, escolar, empresarial y sanitario. En ella se plantean diversas acciones concretas que en el ámbito empresarial son las siguientes:

- Modificar la composición de la grasa de los alimentos elaborados, que deben tener una alta proporción de ácidos grasos insaturados y baja de ácidos grasos *trans*. Así como la paulatina sustitución de grasa saturada por insaturada.
- Fomentar la salida al mercado de gamas de nuevos productos bajos en sal, grasa y azúcares.
- Reducir paulatinamente el aporte calórico de los productos alimenticios presentes en el mercado, así como investigar las soluciones tecnológicas que así lo permitan.
- Disminuir la presencia de sodio en aquellos alimentos que más lo aporten a la ingesta total de la población.

Con la implantación de la *Estrategia NAOS* durante el año 2005, se abre un gran reto para la industria alimentaria española emplazada a desarrollar productos que contribuyan a una alimentación más sana y equilibrada.

I.2.- ALIMENTOS FUNCIONALES.

En general, los requisitos nutricionales necesarios para una alimentación correcta y equilibrada, se consiguen a través de una dieta variada, sana, palatable, personalizada y saludable (Carbajal *et al.*, 2005). Sin embargo, en algunos casos, ciertos colectivos de la sociedad o pacientes con enfermedades crónicas presentan carencias o desajustes alimentarios, que desencadenan en patologías y necesidades alimentarias específicas.

Según el concepto tradicional de nutrición, la principal función de la dieta había sido aportar los nutrientes necesarios para el buen funcionamiento del organismo “**nutrición adecuada**”. Sin embargo, hoy en día este concepto se está sustituyendo por “**nutrición óptima**”, que contempla la posibilidad de que algunos alimentos mejoren nuestra salud y contribuyan a prevenir determinadas enfermedades. Esta definición además conlleva una serie de recomendaciones dietéticas para reducir el consumo de determinados alimentos o sus componentes, así como el desarrollo de nuevos alimentos modificando su composición original, tanto en su contenido en nutrientes como en no nutrientes (Diplock *et al.*, 1999).

A partir de tales planteamientos aparecen los llamados “**alimentos funcionales**”, cuyo desarrollo se basa en la relación entre dieta y salud, y en las posibilidades preventivas de la nutrición.

I.2.1.- Origen y concepto.

El empleo de la dieta en beneficio de la salud no es algo nuevo, sino que ha tenido una gran evolución y controversia a lo largo de la historia.

La primera documentación escrita al respecto aparece en China, y data del año 1000 a. C. En Asia existe una larga tradición de atribuir propiedades curativas o terapéuticas a las hierbas y a los alimentos. Sin embargo, hasta hace poco tiempo había pertenecido a la medicina tradicional o a creencias anecdóticas basadas en la tradición y no en investigaciones científicas. El término “alimento medicinal”, fue utilizado en la literatura de la Dinastía Este Han (año 100 a. C.) y el término de “alimento especial”, por la Dinastía Song (año 1000) (Weng & Chen, 1996).

La creencia de que la alimentación está íntimamente ligada a la salud tampoco es un concepto nuevo en Occidente. En los siglos V-VI a. C., se hacía patente en una frase del médico griego Hipócrates “que el alimento sea tu medicina y la medicina tu alimento”. Asimismo, en las culturas indígenas y orientales, las propiedades medicinales de los alimentos han sido conocimientos transmitidos de generación en generación (Hasler, 1996).

El concepto de "**alimento funcional**" surgió por primera vez en Japón a mediados de la década de los 80, cuando el envejecimiento de la población obligó a dirigir la atención pública hacia la prevención de las enfermedades crónicas (Farr, 1997). Debido al incremento de los costes en la atención sanitaria y con el objetivo de mejorar la salud pública, el Ministerio de Salud y Bienestar del Japón lanzó en 1991 la reglamentación para los “Alimentos para uso específico de salud” (*Foods for specified health use* o FOSHU), para definir a aquellos alimentos que contienen componentes con efectos beneficiosos para la salud, además de sus propiedades nutricionales (Arai, 1996; Arihara, 2004).

El interés por los alimentos funcionales en Europa y en los Estados Unidos (EE.UU.) es más reciente. Hasta los primeros años de la década de los 80, los estudios de nutrición se enfocaron principalmente en las enfermedades por déficit de nutrientes, desde entonces estos estudios se han dirigido más hacia el potencial preventivo de ciertos alimentos o de ciertos tipos de dietas. Fue el aspecto preventivo de la nutrición, el que dio nacimiento al concepto de alimento funcional (Pascal, 1996).

En 1994 la *American Dietetic Association* (ADA) apoya por primera vez la existencia y el estudio de los alimentos funcionales. En 1995 se celebra la primera Conferencia Internacional sobre perspectivas Oriente-Occidente de los alimentos funcionales, cuya misión era recoger la información disponible y unificar las perspectivas del mundo Occidental y Oriental.

En abril de 1996 se celebró en Francia la primera reunión plenaria europea, en la que se discutió el estado de la ciencia de los alimentos funcionales. De acuerdo a los resultados obtenidos se establecieron seis áreas diferentes para su aplicación: crecimiento, desarrollo y diferenciación; metabolismo intermediario; defensa contra especies oxidantes reactivas; prevención y tratamiento de enfermedades o factores de riesgo cardiovascular; fisiología y función del tracto gastrointestinal; y funciones psicológicas y del comportamiento. La segunda reunión tuvo lugar en julio de 1997 en Helsinki, celebrándose una tercera en Madrid a finales de 1998. El primer documento de consenso denominado “*Conceptos científicos sobre los alimentos funcionales en Europa*” (Proyecto FUFLOSE), fue elaborado en 1998, por el comité de expertos de la *Functional Food Science Europe* (FUFLOSE) bajo el liderazgo del *International Life Science Institute Europe* (ILSI Europe). Dicho documento señaló una definición operativa, acerca de que es un alimento funcional.

Un **alimento** es **funcional**, si se demuestra satisfactoriamente que afecta de forma beneficiosa a una o más funciones del organismo, más allá de su valor nutricional, de manera que sea eficaz para mejorar el estado de salud y bienestar y/o reducir el riesgo de enfermedades. Puede ser un alimento natural o transformado (por métodos tecnológicos o biotecnológicos), donde se ha modificado la naturaleza o la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes o cualquier combinación de estas posibilidades. Un alimento funcional, puede ser funcional para todos los miembros de una población o sólo para un grupo en particular, caracterizado, por ejemplo, por la edad o constitución genética. Además un alimento funcional debe ser un alimento (no comprimidos, ni cápsulas), y debe mostrar sus efectos en las cantidades normalmente consumidas en la dieta (Diplock *et al.*, 1999). Basándose en este concepto, existen diferentes posibilidades para la obtención de un alimento funcional (Figura I.2).

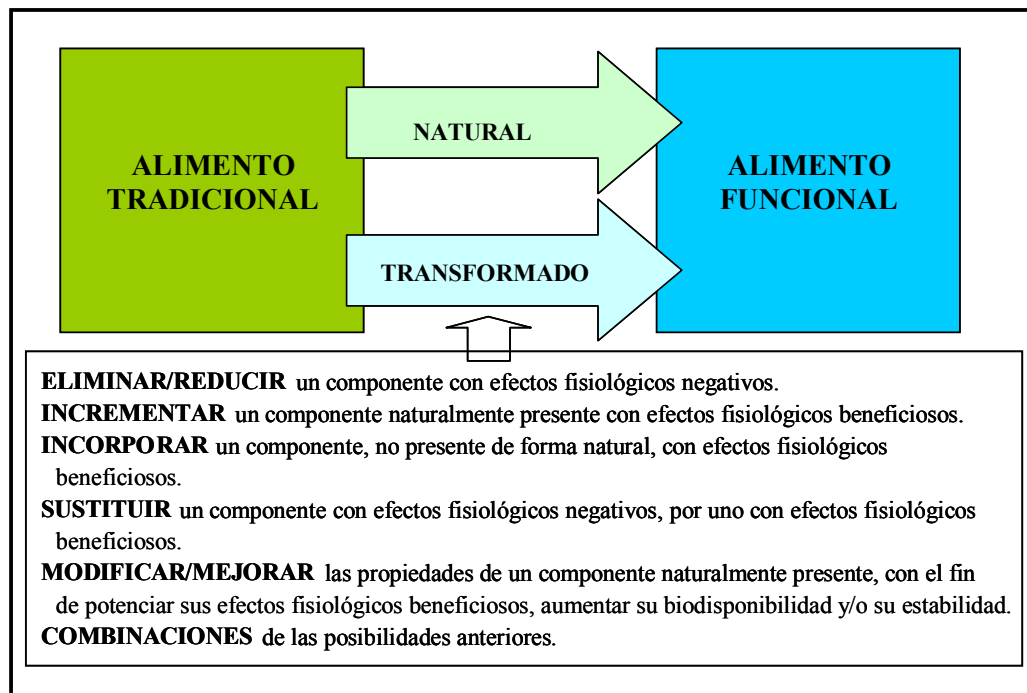


Figura I.2. Posibilidades para obtener un alimento funcional (Adaptado de Jiménez Colmenero, 2006).

I.2.2.- Factores que impulsan el desarrollo de los alimentos funcionales.

En los últimos años son numerosos los factores que han contribuido al creciente interés por los alimentos funcionales (Hasler, 2003).

Por un lado, cada vez son mayores los **hallazgos científicos** que relacionan la existencia de una gran variedad de componentes de la dieta con la capacidad de un individuo para alcanzar todo su potencial genético y minimizar el riesgo de enfermar. Este hecho ha generado un creciente **interés de los consumidores por su salud y calidad de vida**, siendo este un elemento principal a la hora de elegir los alimentos. La adquisición de alimentos más saludables que aporte mayor bienestar está dando impulso al desarrollo del mercado de los alimentos funcionales, que según Sloan (1999) seguirá aumentando durante el siglo XXI. Debido a la mayor esperanza de vida y al envejecimiento de la población, las enfermedades crónicas propias de la edad (cardiopatías, cáncer, osteoporosis, Alzheimer y degeneración macular, etc.), también están en aumento (OMS, 2003). Su tratamiento por lo general es muy costoso y, a menudo no mejora la calidad de vida. Por ello, los alimentos funcionales podrían **aumentar la esperanza y calidad de vida, y reducir los costos en la atención sanitaria.**

Por otro lado, la industria alimentaria emplea **tecnologías** cada **vez más sofisticadas** para la elaboración de sus productos lo que puede contribuir a obtener alimentos más saludables. Esto ha hecho que en el mercado actual exista una **gran variedad de alimentos potencialmente “funcionales”**¹, sin embargo en estos momentos existe la prioridad, por parte de la industria, de identificar que tipo de alimentos funcionales pueden realmente mejorar la salud y bienestar y/o reducir el riesgo o retrasar la aparición de enfermedades.

I.2.3.- Regulación de los alimentos funcionales.

La reglamentación de los alimentos funcionales es un tema de considerable controversia en todo el mundo.

En la actualidad, **Japón** es el único país con una reglamentación establecida para los alimentos funcionales. Allí los alimentos que reciben la categoría de FOSHU llevan un sello de aprobación del Ministerio de Salud y Bienestar (Figura I.3). Estos se han reconocido como alimentos que poseen componentes con implicaciones beneficiosas para la salud, y se ha autorizado la utilización de alegaciones referentes a su implicación sobre la salud en su etiquetado. En Marzo del 2004, eran 410 los alimentos FOSHU (divididos en 13 categorías), autorizados por el gobierno japonés (Arihara, 2004), de ellos varios son productos cárnicos.



Figura I.3. Logotipo para la identificación de alimentos FOSHU.

En la **Unión Europea** (UE) la situación es diferente y la regulación de los alimentos funcionales está bastante dividida, ya que cada país miembro sigue una

¹ Se han denominado como potencialmente “funcionales”, debido a que en muchos casos no puede considerarse como funcional en base a la definición establecida (Diplock *et al.*, 1999). Un simple cambio de composición no garantiza que el producto mejore el estado de salud y/o reduzca el riesgo de enfermar. La capacidad de provocar dichos efectos beneficiosos debe ser demostrada.

estrategia y reglamentación distinta. Por ello es necesaria una política integrada sobre legislación alimentaria, que armonice las normativas y establezca una política común para todos los países miembros (Mazza, 2000). El proyecto FUFLOSE (1998) estableció el concepto de alimento funcional y en él se elaboró por primera vez un marco global que incluyó una estrategia para la identificación y desarrollo de los alimentos funcionales y para la fundamentación científica de sus efectos, a fin de justificar las alegaciones. En especial, se establecieron dos tipos de alegaciones (de mejora de función y de disminución del riesgo de enfermedad), para caracterizar a los alimentos funcionales. Con el fin de evaluar el fundamento científico de las alegaciones se elaboró otro proyecto presentado por la Comisión a mediados del año 2003 (Proyecto PASSCLAIM), para crear un etiquetado adecuado de los productos alimentarios con alegaciones de “propiedades saludables” (ILSI Europe, 2002). Además un etiquetado correcto también es importante ya que el empleo de sustancias anteriormente no utilizadas (o consumidas en menor cantidad), puede dar lugar a problemas de salud, por causar intolerancias y/o alergias en ciertos individuos. Por ello es necesario que el etiquetado contemple no sólo la información sobre los ingredientes principales, sino también de todos los nuevos componentes que forman parte del producto, imprescindible para prevenir episodios alérgicos. En este sentido el 25 de Noviembre de 2005 entró en vigor la norma aprobada por la UE en Septiembre de 2003, por la cual los alimentos deben hacer constar en sus etiquetados información que permita saber si entre sus ingredientes hay algún producto que puede causar alergia (Directiva 2003/89/CE), que en el caso de España se ha llevado a cabo la transposición de esta a través del Real Decreto 1716/2004. En la cual, además también se recoge una lista de productos que suelen causar alergias con más frecuencia (como frutos secos, huevos, pescado o mostaza). En relación a los mensajes sobre salud en los alimentos, la normativa actual de etiquetado aprobada por los ministros de Sanidad europeos el 3 de Junio de 2005 limita las alegaciones propuestas en el “Reglamento del parlamento europeo y del consenso sobre las alegaciones nutricionales y de propiedades saludables” (2003/0165(COD)).

Por otro lado, en **Estados Unidos** (EE.UU.), los alimentos funcionales no pertenecen a una categoría reconocida legalmente (Ross, 2000), por lo que han de ser reglamentados bajo una de las categorías de alimentos existentes recogidas en la ley federal de Alimentos, Medicamentos y Productos Cosméticos de 1938 o las categorías

más recientes establecidas por enmiendas a esa legislación (Hutt, 2000). En la actualidad, numerosos alimentos y componentes alimentarios cumplen con los requisitos para llevar alegaciones de propiedades saludables en sus etiquetados, al ser aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (*Food and Drugs Administration*, FDA, 2004) por los beneficios que su consumo ejerce sobre la salud.

I.2.4.- Alimentos potencialmente funcionales en el mercado español.

La demanda de alimentos funcionales es alta y crece continuamente. En el mercado español se ofrecen actualmente unos 200 tipos de ellos, entre los que se encuentran productos lácteos, cereales, refrescos, aceites, bebidas deportivas, verduras, productos cárnicos y huevos (Tabla I.3).

Según un estudio realizado por ACNielsen España (2003), los productos que confieren alguna ayuda para la salud suponen el 16,9 % de las ventas. De acuerdo al panel de encuesta en los hogares *Homescan* (ACNielsen, 2003), más del 40 % de los hogares españoles ha comprado alguno de estos productos innovadores (“alimentos funcionales”) en los últimos seis meses del año 2003.

En el sector cárnico español, en el año 2004, las ventas de embutidos ligeros, bajos en grasas, bajos en sal y enriquecidos (en calcio, n-3, etc.) (pechuga de pavo, chorizos y morcillas, fuets de pavo, jamón york “bio”, paleta cocida sin gluten, salchichas sin sal, etc.), crecieron un 28 %, respecto al 2003, con un volumen de ventas de 8.200 kilos. Según otro informe de ACNielsen España (2005), esta gama de productos representó en el año 2004 una cuota de mercado del 2,3 %, que ascendió a 356.445 kilos, lo que supuso más del 3 % respecto al 2003.

Este comportamiento es muy semejante a lo que sucede a escala mundial. Un estudio realizado sobre las tendencias de consumo alimentario en el año 2004, sobre 89 categorías de alimentos en 59 países, entre ellos España (*Institute of Food Technologies*, EEUU), pone de manifiesto que una de las principales tendencias de consumo se encamina hacia productos bajos en grasa, demandados por el 63 % de los consumidores, de los cuales el 55 % se centra en productos con poca grasa saturada. Además, el 40 %

de los consumidores compra alimentos bajos en hidratos de carbono y el 71 % revisa las etiquetas para comprobar la proporción de grasa (Sloan, 2005).

Los alimentos funcionales, a pesar de que en la actualidad representan sólo un pequeño porcentaje del consumo total de alimentos, tienen una presencia generalizada. Según datos de *Datamonitor* la proporción de alimentos funcionales en el mercado aumentará cada año en un 16 % (ACNielsen, 2003).

Tabla I.3. Ejemplos de algunos alimentos potencialmente “funcionales” comercializados en España (Pérez Llamas *et al.*, 2001; HISPACOOP, 2005).

TIPO DE ALIMENTO	PRODUCTO Y ALEGACIONES SOBRE SUS COMPONENTES ACTIVOS
ALIMENTOS TRANSFORMADOS	
Lácteos	Leche digestiva o baja en lactosa. Leches enriquecidas en vitaminas y/o minerales. Leche desnatada con fibras solubles. Leche con jalea real. Leche modificada en grasa: n-3, CLA ¹ . Lácteos bajos en grasa. Alimentos probióticos: yogur y leches fermentadas. Yogur con fitoesteroles.
Cereales	Cereales de desayuno fortificados. Barritas energéticas.
Bebidas	Zumos y bebidas enriquecidas (vitaminas, calcio, fibras, etc.). Bebidas estimulantes. Bebidas isotónicas.
Carnes y derivados	Fiambres bajos en sal. Jamón cocido bajo en grasas. Derivados cárnicos enriquecidos (n-3, fibra, etc.).
Grasas	Margarina enriquecida (n-3, calcio, etc.). Margarina rica en fitoesteroles.
Condimentos	Sal yodada.
ALIMENTOS NATURALES	
Aceite de oliva	Ácido oleico y polifenoles.
Ajos	Organosulfurados.
Huevos	Huevos n-3 (DHA).
Carne y leche de rumiantes	CLA ¹ .
Vino y uva	Polifenoles, flavonoides y trans-reverastrol.
Soja	Isoflavonas, fitoestrógenos, inhibidores de proteasas.
Nueces	Ácidos grasos: oleico, linoleico y α -linolénico; fitoesteroles y vitamina E.
Cereales	Cereales integrales.
Té	Polifenoles y flavonoides.
Tomates	Licopeno.

¹ CLA, ácido linoleico conjugado.

I.3.- LA INDUSTRIA CÁRNICA EN ESPAÑA.

Según el informe del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, el sector de alimentos y de bebidas en la Unión Europea es la rama de actividad más importante de la industria manufacturera en términos de valor de producción, con 593.721 millones de euros. En España, la industria alimentaria ocupa una posición dominante al representar el 17,2 % de la facturación total de productos y el 20,4 % del gasto de materias primas (MAPA, 2001).

En cuanto al número de empresas de la industria alimentaria española, en enero del 2003, ascendía a 33.337, de las que el 13,8 % corresponde a la industria cárnica (4.589 empresas), precedido por el subsector de pan, pastelería y galletas (41,5 %). Comparándolo con 1996 el número de empresas se ha incrementado en un 5,6 % y en un 51,1 % el de ventas netas, alcanzándose en el 2001 la cifra de 13.222,33 millones de euros (MAPA, 2005).

La producción de carne ha aumentado en algo más de 500.000 toneladas desde el año 1999 (Tabla I.4). Por especies, España en el año 2004 fue el cuarto productor mundial de carne de porcino, alcanzando más de tres millones de toneladas (Tabla I.4). Le sigue en importancia la carne de aves, que representó un 24 % del sector y la carne de vacuno que ocupó el tercer lugar (12,4 %). Desde mediados de la década de los 90 la producción ovina y caprina permanecía estacionaria, tendencia que se ha mantenido hasta comienzos del año 2000, donde la producción de ovino subió, debido sobretudo a la crisis de la encefalopatía espongiforme bovina. Pasada esta situación la carne de vacuno ha visto incrementada su producción, alcanzando niveles superiores a los que tenía anteriormente a la crisis (Tabla I.4).

Por otro lado, en los últimos años la producción de elaborados cárnicos se ha incrementado en torno a un 18 % (Tabla I.5). El mayor aumento se centra en los productos tratados por el calor que representan el 42 %, seguidos por los jamones y paletas curadas con el 19,5 % y embutidos curados con un 16 %.

Tabla I.4. Producción española de los principales tipos de carne (miles de Tm) (MAPA, 2005).

	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Porcino	2.892,25	2.912,39	2.992,70	3.122,57	3.189,50	3.191,00
Vacuno	677,57	631,78	642,03	654,16	703,45	714,11
Ovino	221,32	232,33	236,49	239,50	236,24	233,37
Caprino	17,46	18,80	15,36	15,10	13,91	13,59
Aves	1.000,55	986,71	1.307,26	1.331,70	1.330,03	1.308,30
Equino	6,27	6,73	8,63	5,74	4,77	4,92

Según el Panel de Consumo Alimentario 2004 del gasto total en alimentación un 22 % correspondió al de carne y productos cárnicos, seguido del de pescado (14 %) (Figura I.4).

Tabla I.5. Evolución de la producción (Tm) e incremento (%) de los derivados cárnicos en España de los últimos cuatro años (MAPA, 2005).

	2000	2001	2002	2003	2004	%
Jamón y paletas curados	200.510	204.339	234.000	245.700	249.106	19,5
Embutidos curados	169.999	179.094	184.466	191.844	193.000	11,9
Jamón y paleta cocidos	136.841	150.607	158.137	169.997	172.546	20,7
Otros tratados por el calor	279.229	299.222	329.323	345.789	358.336	22,1
Productos adobados y frescos	145.487	167.637	170.000	170.680	174.434	16,6
Platos preparados	57.558	59.918	63.513	66.688	68.688	16,2
Total	989.624	1.060.817	1.141.439	1.190.698	1.212.704	18,4

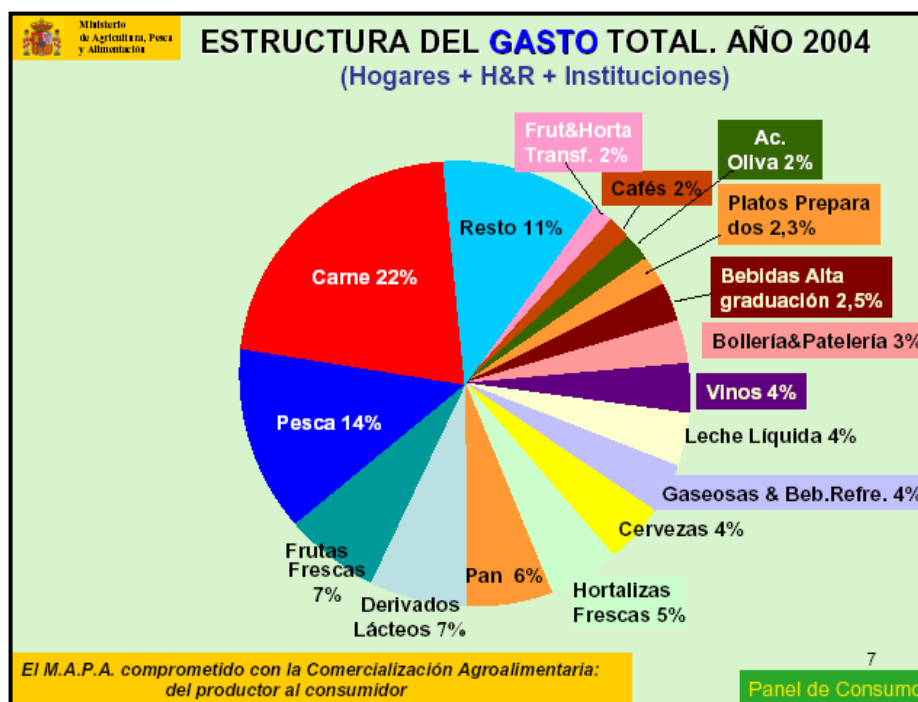


Figura I.4. Estructura del gasto total alimentario (MAPA, 2005).

El mayor gasto en alimentación se realiza dentro de los hogares, representando el 72,5 % del gasto total en alimentación (54.231 millones de euros), lo que supuso un consumo de carnes de 2.228.628 toneladas, del cuál, el consumo de carne fresca fue de 1.724.885 toneladas, carne congelada 29.447 toneladas y 474.194 toneladas de carne transformada (Tabla I.6).

Tabla I.6. Consumo de carne y productos transformados en los hogares españoles, en el año 2004 (MAPA, 2005).

	TONELADAS	MILES DE EUROS	CONSUMO PER CÁPITA (kg)	GASTO PER CÁPITA (€)
Carne fresca	1.724.885	8.990476	41,08	214,13
Vacuno	328.627	2.504.589	7,83	59,65
Pollo	579.556	1.860.781	13,80	44,32
Ovino/caprino	117.980	1.007.859	2,81	24,00
Porcino	471.923	2.575.575	11,24	61,34
Carne congelada	29.447	127.808	0,70	3,04
Carne transformada	474.194	3.780.047	11,29	90,03
Total	2.228.526	12.898.331	53,08	307,21

I.4.- IMPORTANCIA DE LA CARNE EN LA DIETA.

La importancia de la carne en la dieta de los españoles, por lo general ajustado a un patrón mediterráneo (Carbajal & Ortega, 2001), queda demostrada por su elevado consumo. El 95 % de la energía total de esta dieta es suministrada por unos 115 alimentos y entre ellos, se encuentra distintos tipos de carne y productos derivados (pollo, vacuno, cerdo, cordero, jamón de York y chorizo) (Varela *et al.*, 1995).

El consumo medio de carne y derivados en la dieta española se sitúa en torno a 187,11 g/persona/día, aportando el 14, 9% (392 kcal/día) del total de las kcal de la dieta (2.634 kcal/día) (Tabla I.7). Asimismo, según este estudio (ENNA-3), el incremento en el consumo de alimentos de origen animal, ha mejorado sensiblemente la calidad de la proteína, siendo procedente de la carne el 32,6 % (Tabla I.7). Aportando cantidades importantes de un gran número de nutrientes (Tabla I.7).

El consumo de carne en el 2002, según los datos aportados por el MAPA, fue de 185,16 g/persona/día. Junto con huevos y pescado, aportó el 45 % de las proteínas, más del 24 % de las grasas y un 18 % de la energía y un porcentaje no significativo de hidratos de carbono (0,4 %). Asimismo, suministraron el 80 % del colesterol, más de la mitad de la vitamina B₃ (niacina), alrededor de la tercera parte de las vitaminas A, B₁, B₂, del hierro del yodo y del cinc en una dieta estimada en 2.843 kcal (MAPA, 2005).

Tabla I.7. Perfil nutricional de la dieta media en España en 1990-91, ENNA-3 (Varela *et al.*, 1995) y su relación con el consumo de carne y sus derivados.

Nutriente/día	Ingestión total diaria	Procedente de la carne y sus derivados	Relación (%) aportado por la carne a la dieta
Calorías (kcal)	2.634	392	14,9
Proteínas (g)	93,5	30,5	32,6
H. de carbono (g)	294	0,35	0,1
Grasa (g)	121	29,8	24,6
SFA (g)	34,9	11,6	33,2
MUFA (g)	55,2	13,0	23,5
PUFA (g)	19,8	2,4	12,1
Colesterol (mg)	440	175	39,8
Hierro (mg)	14,2	3,1	21,8
Cinc (mg)	11,4	3,1	27,0
Vitamina B₁ (mg)	1,46	0,45	30,8
Vitamina B₂ (mg)	1,76	0,38	21,6
Vitamina B₆ (mg)	1,54	0,38	25,0
Vitamina B₁₂ (µg)	8,28	4,39	53,0

I.5.- IMPLICACIONES DE LOS COMPONENTES DE LA CARNE Y LOS PRODUCTOS CÁRNICOS EN LA SALUD.

La carne y sus derivados contienen una amplia variedad de componentes con potenciales efectos, positivos o negativos, sobre la salud. Tales componentes pueden ser divididos en tres grandes grupos (Figura I.5).

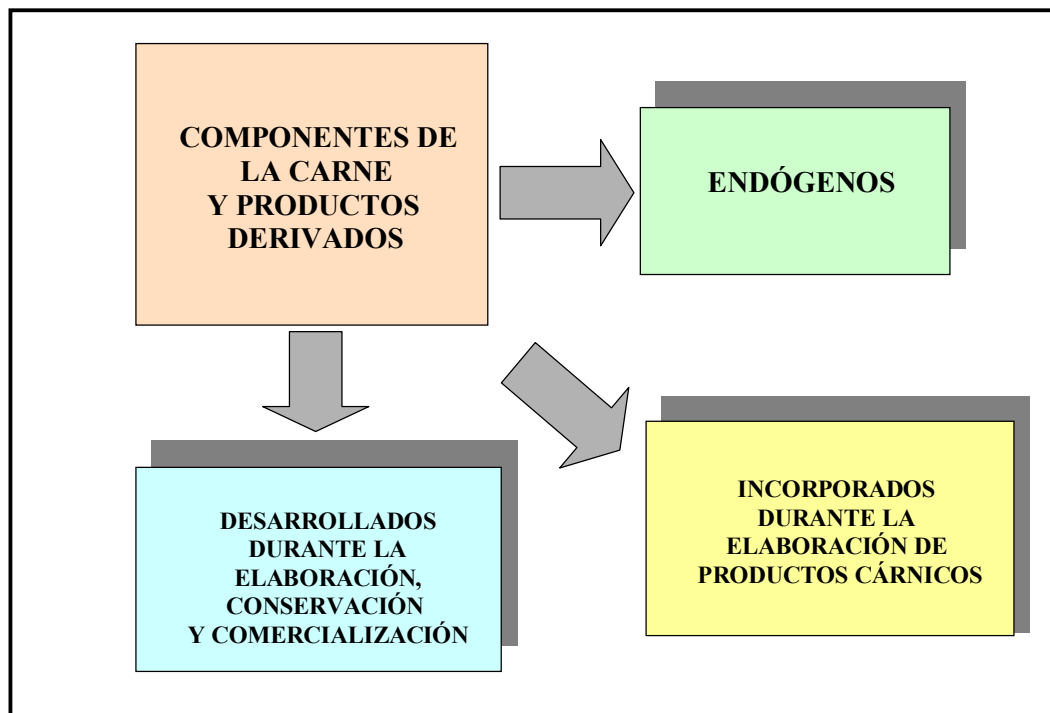


Figura I.5. Componentes de la carne y productos derivados que pueden provocar efectos sobre la salud.

Los componentes endógenos mayoritarios de la carne (agua, proteína y grasa), son constantes en una amplia diversidad de especies animales, representando las mayores variaciones entre ellos a nivel cuantitativo. Además posee otros que se encuentran en menor cantidad (vitaminas, minerales, etc.) y que difieren tanto cualitativa como cuantitativamente.

Sin embargo, también se encuentran presentes ciertos componentes que son añadidos durante la elaboración de los productos cárnicos, por motivos tecnológicos, microbiológicos o sensoriales (sal, nitritos, fosfatos, etc.). De igual modo existen algunas sustancias desarrolladas por efecto de la aplicación de ciertos procesos tecnológicos (contaminantes procedentes de desinfectantes o detergentes, algunos compuestos tóxicos originados durante la cocción, etc.). Finalmente algunos

compuestos pueden aparecer durante la fase de conservación y/o comercialización (crecimiento de bacterias patógenas, formación de productos derivados de la oxidación lipídica o la migración de compuestos desde el material de envasado al producto, entre otros) (Jiménez Colmenero *et al.*, 2001).

I.5.1.- Componentes endógenos de la carne.

Los componentes mayoritarios de la carne son agua, proteínas y lípidos (Tabla I.8). Además posee pequeñas cantidades de sustancias nitrogenadas no proteicas (aminoácidos libres, péptidos, creatina, nucleótidos, etc.), hidratos de carbono, ácido láctico, minerales y vitaminas. Las variaciones más amplias se producen principalmente en la composición lipídica de la carne dependiendo de varios factores (especie, predisposición genética, edad, sexo, nutrición, etc.). Los productos cárnicos presentan mayores diferencias en la proporción de sus constituyentes mayoritarios, dependiendo del tipo de producto y formulación.

Tabla I.8. Composición (%) de carne de diferentes especies (USDA, 2004) y productos cárnicos ¹ (Mataix *et al.*, 1994; Moreiras *et al.*, 2003; USDA, 2004).

CARNE	AGUA	PROTEÍNA	LÍPIDOS	kcal
Vacuno				
Redondo	67,3-70,6	21,8-22,8	6,2-10,6	153-188
Pecho	53,5-74,3	16,1-21,7	3,6-29,1	124-331
Cerdo				
Lomo	69,2-71,3	18,7-19,0	7,2-9,6	145-167
Costillas	63,5-71,8	17,0-19,3	8,28-18,7	157-241
Paletilla	62,1-73,1	16,7-21,2	5,9-20,2	140-253
Cordero				
Pierna	60,3-74,4	16,9-20,8	3,8-22,1	123-272
Pollo				
Pechuga	69,5-74,8	20,8-23,1	1,2-9,3	110-172
PRODUCTOS CÁRNICOS				
Hamburguesas	59	15,2	20,5	265
Chorizo	31,8-44,0	22,0-24,1	32,1-38,3	384-455
Salchichón	34,1	25,8	38,1	454
Jamón cocido	48,5-74,6	16,3-21,5	3,7-29,2	104-352
Jamón Serrano	48,0-65,9	17,0-30,5	4,5-35,0	162-380
Salchichas tipo				
Frankfurt	52,0-71,5	11,2-12,5	1,6-29,6	109-330

¹ Los datos pertenecen a varios tipos y variedades de productos que responden a esa denominación.

I.5.1.1.- Agua.

Cuantitativamente el agua es el componente más importante de la carne (Tabla I.8). Su presencia está inversamente relacionada con la de grasa y puede condicionar alguna de las propiedades de los productos elaborados.

I.5.1.2.- Proteínas, péptidos y aminoácidos.

La carne es una fuente importante de proteínas (Tabla I.8), su proporción depende de la cantidad de grasa y agua (Martín, 2002). El 32 % de la proteína ingerida en la dieta española es de origen cárnico (Tabla I.7), representando más del 4 % de la energía de la dieta, y entre un 30,6 y 38,3 % del aporte energético correspondiente a proteína para una dieta saludable (Tabla I.1).

Son proteínas de alto valor biológico, ya que un 40 % de los aminoácidos que las componen son esenciales (lisina, isoleucina, treonina, valina, leucina, metionina, fenilalanina, histidina y triptófano) (Higgs, 2002), variando en función de la especie (Tabla I.9). Además están en suficiente cantidad y proporción para cubrir las necesidades corporales, el crecimiento y la reconstitución de los tejidos (importantes para los deportistas y en períodos postoperatorios), por ser muy similares a los que componen el tejido humano (Higgs, 2000). El tratamiento térmico afecta muy poco el valor biológico de las proteínas cárnicas, aunque disminuye algo la biodisponibilidad de algunos aminoácidos esenciales como la lisina, metionina y triptófano. Las proteínas también poseen la capacidad de provocar saciedad (diferente según el tipo de carne), sin afectar negativamente a la función renal, siendo útil en dietas para favorecer la pérdida de peso y de este modo reducir el riesgo cardiovascular (Uhe *et al.*, 1992; Higgs, 2000).

Tabla I.9. Contenido en aminoácidos (g/100 g de músculo) de las proteínas cárnicas de distintas especies ¹ (USDA, 2004).

	VACUNO (redondo)	CORDERO (pierna)	CERDO (costillas)	POLLO (pechuga)
Aminoácidos esenciales				
Triptófano	0,24-0,25	0,19-0,24	0,20-0,24	0,23-0,27
Treonina	0,94-0,99	0,72-0,89	0,73-0,88	0,86-0,97
Isoleucina	0,98-1,02	0,87-1,00	0,75-0,90	1,06-1,22
Leucina	1,72-1,80	1,31-1,62	1,29-1,54	1,53-1,73
Lisina	1,81-1,89	1,49-1,84	1,45-1,73	1,72-1,96
Metionina	0,55-0,58	0,43-0,53	0,42-0,51	0,56-0,63
Valina	1,06-1,10	0,91-1,12	0,87-1,04	1,02-1,14
Fenilalanina	0,85-0,89	0,69-0,85	0,64-0,76	0,81-0,91
Histidina	0,74-0,78	0,53-0,66	0,64-0,77	0,62-0,71
Aminoácidos no esenciales				
Cisteína	0,24-0,25	0,20-0,25	0,20-0,24	0,27-0,29
Arginina	1,37-1,44	1,00-1,24	1,02-1,19	1,28-1,39
Tirosina	0,73-0,76	0,56-0,70	0,52-0,67	0,64-0,79
Alanina	1,31-1,37	1,01-1,25	0,93-1,12	1,18-1,26
Ácido Aspártico	1,99-2,08	1,49-1,83	1,49-1,78	1,85-2,05
Ácido Glutámico	3,27-3,42	2,458-3,02	2,52-3,02	3,07-3,45
Glicina	1,19-1,24	0,82-1,02	0,76-0,91	1,13-1,22
Prolina	0,96-1,00	0,71-0,87	0,64-0,77	0,94-0,95
Serina	0,83-0,87	0,63-0,77	0,66-0,79	0,72-0,79
Relación				
Lisina/arginina	1,31-1,32	1,48-1,49	1,42-1,45	0,66-1,41

¹ Cortes comerciales seleccionados de la tabla I.8.

La carne contiene derivados proteicos con efectos fisiológicos beneficiosos para la salud (Tabla I.10). En tal sentido algunos aminoácidos y péptidos poseen capacidad antioxidante, contribuyen a la síntesis de anticuerpos y por lo tanto a la resistencia frente algunas enfermedades (Romans *et al.*, 1994). Algunas proteínas de la carne son precursores de péptidos bioactivos (Kuwahara *et al.*, 1999; Arihara, 2004), así ciertos hidrolizados proteicos de músculo y glóbulos rojos de vacuno actúan reduciendo los factores de riesgo de enfermedades hepáticas y cardiovasculares (Honda *et al.*, 1999).

Tabla I.10. Ejemplos de derivados proteicos, que poseen efectos fisiológicos beneficios para la salud.

	Origen y/o efecto fisiológico
Arginina	Aminoácido con efecto antioxidante por ser el precursor del óxido nítrico (Romans <i>et al.</i> , 1994).
Aminoácidos esenciales:	Contribuyen a la síntesis de anticuerpos y en la resistencia frente algunas enfermedades (Romans <i>et al.</i> , 1994). Como la <i>Taurina</i> que se comporta como un aminoácido esencial para recién nacidos y ancianos, siendo la carne una fuente importante para su aporte (Higgs & Mulvihill, 2002).
Creatina	Compuesto nitrogenado sintetizado a partir de proteínas (principalmente de carne y pescado), posee un importante efecto en el metabolismo energético del músculo, ya que ciertos suplementos de este compuesto incrementan su rendimiento (McKenna <i>et al.</i> , 1999).
Glutación	Péptido con efecto reductor, cuya fuente más importante es la carne. Proporciona protección celular frente a una amplia variedad de procesos toxicológicos y patológicos, por lo que puede ser importante en la prevención frente a enfermedades crónicas (Higgs, 2000). Asimismo se le considera como el posible responsable del efecto atribuido a la carne de aumentar la absorción del hierro no hemo de otros alimentos (Cobiac, 2000).
L-Carnitina	Péptido que aporta energía y disminuye los niveles de colesterol, ayudando en la absorción del calcio. Procede en un 75 % de la dieta, principalmente por la carne roja (Arihara, 2004). Además posee capacidad antioxidante y puede ser crítico en el desarrollo normal del cerebro (Cobiac, 2000). Asimismo disminuye la aparición de ácido láctico y acelera el quemado de grasas al aumentar la función mitocondrial (Gásperslin <i>et al.</i> , 2002).
Carnosina y anserina	Péptidos bioactivos con capacidad antioxidante, más abundantes en la carne, protegen frente al estrés oxidativo, antiinflamación y antitumorales (Arihara, 2004).
Péptidos antihipertensivos	Péptidos bioactivos que inhiben la enzima angiotensina-I convertasa, con el consiguiente efecto sobre la presión sanguínea. Principalmente son derivados de proteínas de la leche, pero algunos se obtiene a partir de hidrolizados proteicos de músculo, como miopentapeptidos A y B, hidrolizados de miosina de cerdo (Arihara, 2004).

I.5.1.3.- Lípidos.

La carne y los productos cárnicos son una de las fuentes más importantes de grasa en la dieta. Alrededor del 24 % de la grasa ingerida en la dieta española es de origen cárnico (Tabla I.7), representando un 10 % de la energía y entre 29 y 34 % del aporte energético recomendado de grasa (30-35 %) de la dieta saludable (Tabla I.1). Asimismo aporta entre 49-56 % de SFA, el 22-29 % de MUFA y el 16 % de PUFA, correspondientes al valor energético para los distintos tipos de ácidos grasos en la dieta saludable recomendada (Tabla I.1).

La cantidad de lípidos en la carne y productos cárnicos varía en función de varios factores: especie, raza, edad, sexo, estado sexual, alimentación, estación del año, ejercicio y parte anatómica del animal, así como la formulación del producto cárnico (Tabla I.11). En los últimos años se ha conseguido una importante reducción en el contenido en grasa de la carne, debido a cambios en la alimentación (apartado I.6.1), en la preparación y en el corte de la misma (apartado I.6.2). En tal sentido la carne magra contiene niveles de grasa inferiores al 5 % (Cassens, 1999; Chizzolini *et al.*, 1999; Higgs & Mulvihill, 2002). Esta reducción no afecta al aporte nutricional por poseer la mayor parte de sus nutrientes en la parte magra. Sin embargo, algunos productos cárnicos contienen elevadas proporciones de grasa, muy superiores a las de la carne de la cual proceden (Tabla I.11).

Según su localización los lípidos de la carne se pueden agrupar en tres tipos: lípidos del tejido subcutáneo, grasa intermuscular y grasa intramuscular. Los lípidos del tejido subcutáneo y la grasa intermuscular están constituidos mayoritariamente por triglicéridos, principalmente lípidos neutros (glicerol esterificado con ácidos grasos), con un bajo contenido en fosfolípidos, y una pequeña cantidad de colesterol (fracción insaponificable junto a vitaminas liposolubles). Los lípidos intramusculares están compuestos por lípidos neutros, mayoritariamente triglicéridos (62-82 %), también contienen fosfolípidos (17-34 %) y una pequeña cantidad de fracción insaponificable (Martín, 2002).

Tabla I.11. Contenido en grasa (%), SFA, MUFA y PUFA (en % sobre el total de ácidos grasos) y colesterol (mg/100 g de músculo) de carne ¹(USDA, 2004) y productos cárnicos ² (Mataix *et al.*, 1994; Moreiras *et al.*, 2003; USDA, 2004).

CARNE	Grasa total	SFA	MUFA	PUFA	Colesterol
Vacuno					
Redondo	6,2-10,5	36,4-40,5	40,4-42,8	4,6-4,2	38-60
Cerdo					
Lomo	7,1-9,6	39,5-37,4	46,0-47,6	8,9-8,6	49-52
Costillas	8,3-18,7	34,3-34,7	44,6-45,0	10,3-10,7	-
Cordero					
Pierna	3,8-22,1	42,6-44,0	38,42-41,07	5,0-7,8	63-76
Pollo					
Pechuga	1,2-9,3	26,6-28,7	24,2-41,3	22,6-21,2	58-64
PRODUCTOS CÁRNICOS					
Hamburguesas	20-31	44,9	50,80	4,30	59
Chorizo	29,3-38,3	37,6-44,1	46,9-48,1	3,5-9,0	72-88
Salchichón	38,1-39,5	37,7-38,6	43,6-49,7	7,5-12,6	72-77
Jamón cocido	3,7-29,2	33,5-38,7	43,5-46,5	7,6-9,5	47-69
Jamón Serrano	4,5-35,0	37,2-38,6	43,5-49,6	7,5-13,2	62-70
Salchichas tipo					
Frankfurt	1,6-29,6	31,4-39,5	46,5448,4	3,9-22,0	41-53

¹ Cortes comerciales seleccionados de la tabla I.8.

² Los datos pertenecen a varios tipos y variedades de productos que responden a esa denominación.

Los fosfolípidos presentan elevadas cantidades de PUFA, llegando incluso a un 8 %. El contenido en ácidos grasos varía en función de la especie (Tabla I.12), músculo y dieta (cantidad de grasa y proteína que contiene el alimento), entre otros factores, siendo la modificación por la dieta de mayor importancia en los animales monogástricos (apartado I.6.1).

Debido a la hipótesis surgida en 1980 (hipótesis arteriosclerótica), que relaciona el contenido graso (principalmente SFA y colesterol) de la carne con el desarrollo de ECV, algunos tipos de cáncer, hipertensión y obesidad, la carne ha ido perdiendo gradualmente su imagen de alimento saludable (Higgs, 2000). Sin embargo, esto no siempre responde a la realidad, ya que como se puede observar en la tabla I.12 el perfil lipídico presenta elevados valores de ácidos grasos insaturados (50-70 %) y el nivel de SFA se sitúa, entorno al 30-50 %.

Tabla I.12. Contenido en ácidos grasos (g/100 g de músculo) de la grasa de diferentes especies ¹ (USDA, 2004).

	VACUNO (redondo)	CORDERO (pierna)	CERDO (costillas)	POLLO (pechuga)
C10:0	0,02	0,01-0,06	0,010	-
C12:0	0,02	0,01-0,10	0,01-0,02	0,01
C14:0	0,14-0,24	0,08-0,90	0,10-0,23	0,01-0,08
C16:0	1,33-2,42	0,77-4,88	1,82-4,04	0,21-1,95
C18:0	0,68-1,22	0,63-3,60	0,89-2,12	0,10-0,54
SFA	2,27-4,28	1,62-9,73	2,83-6,49	0,33-2,66
C16:1 <i>n</i> -7	0,20-0,45	0,07-0,64	0,26-0,53	0,03-0,50
C18:1 <i>n</i> -9/ <i>n</i> -7	2,23-3,89	1,38-8,15	3,39-7,65	0,25-3,17
C20:1 <i>n</i> -9/ <i>n</i> -11	0,01	-	0,06-0,14	0,01
MUFA	2,52-4,52	1,46-9,08	3,71-8,34	0,30-3,82
C18:2 <i>n</i> -6	0,22-0,30	0,12-1,27	0,72-1,67	0,17-1,74
C20:4 <i>n</i> -6	0,04-0,05	0,02-0,07	0,10-0,11	0,04-0,05
C18:3 <i>n</i> -3	0,01-0,08	0,06-0,40	0,03-0,13	0,01-0,08
C20:5 <i>n</i> -3	-	-	-	0,01
C22:5 <i>n</i> -3	-	-	-	0,01
C22:6 <i>n</i> -3	-	-	-	0,02
PUFA	0,29-0,44	0,19-1,73	0,85-2,00	0,28-1,96
PUFA/SFA	0,10-0,13	0,12-0,17	0,30-0,31	0,11-5,94

¹ Cortes comerciales seleccionados de la tabla I.8.

Los **SFA** que predominan en la carne son el ácido palmítico (C16:0) y el esteárico (C18:0) y en una menor cantidad el ácido mirístico (C14:0) (Tabla I.12). Estos se han relacionado con el incremento de colesterol en sangre y como causantes de aterosclerosis (Higgs & Mulvihill, 2002). Entre ellos, el ácido mirístico es el más aterogénico, con un potencial cuatro veces mayor para elevar el colesterol sérico que el ácido palmítico (Ulbricht & Southgate, 1991), sin embargo, la cantidad de mirístico en la carne, es mucho menor que la de palmítico (Higgs & Mulvihill, 2002). El ácido esteárico se considera un ácido graso neutro con respecto a las ECV, debido a que no aumenta los niveles de colesterol sanguíneos (Bonanome & Grundy, 1988), ni otros factores de riesgo trombogénico (Kelly *et al.*, 1999; 2001).

Dentro de los ácidos grasos insaturados, la proporción de **MUFA** representa en torno al 44-50 %, siendo el oleico (C18:1 *n*-9/*n*-7) el predominante (40 %) (Tabla I.12), igual que en el aceite de oliva (Higgs & Mulvihill, 2002). Los MUFA son ácidos grasos

hipocolesterolemiantes, que disminuyen los niveles de LDL-colesterol, sin alterar los de HDL-colesterol (Mattson & Grundy, 1985).

Los **PUFA** representan del 6 al 40 % del total de ácidos grasos (Tabla I.12) y provocan la disminución de los niveles de LDL-colesterol y HDL-colesterol en plasma (Mattson & Grundy, 1985). Existe dos tipos de PUFA, los omega-3 (*n-3*) y los omega-6 (*n-6*), entre los cuales destacan el ácido linoleico (C18:2 *n-6*; LA) y el LNA (C18:3 *n-3*), que son ácidos grasos esenciales (Chan, 2004). En el organismo se elongan y desaturan para obtener derivados de cadena larga como son los ácidos grasos araquidónico (C20:4 *n-6*; ARA) y docosapentaenóico (C22:5 *n-6*) a partir del LA, y los ácidos eicosapentaenóico (C20:5 *n-3*; EPA) y DHA (C22:6 *n-3*) a partir del LNA. Aparecen en cantidades importantes en la carne, sobretodo DHA y EPA, que no se encuentran en muchos alimentos aparte de en el pescado. Los ácidos grasos DHA y EPA, son necesarios para regular la función de los fosfolípidos de las membranas celulares y son precursores de las prostaglandinas (eicosanoides u hormonas tisulares). Algunas enfermedades (ECV y cáncer) se han asociado a un exceso de *n-6* eicosanoides derivados del ácido araquidónico, por ello una posible prevención es el aporte PUFA *n-3* (Chapkin, 1992; Gasperlin & Cepin, 2002), con el fin de mantener la relación *n-6/n-3* en valores próximos o inferiores a 4 (Gibney, 1993; USDA, 2004). Este valor es el que tiene la grasa de algunos animales (Higgs & Mulvihill, 2002; Wood *et al.*, 2003).

Entre los **ácidos grasos *trans*** hay que destacar el **CLA**, que se encuentra de forma natural tanto en la leche como en la carne (0,6-14,9 mg/g de grasa en la carne), principalmente de rumiantes (Higgs, 2000). El CLA engloba isómeros del LA (*cis-9*, *cis-12*, C18:2), con dobles enlaces conjugados, siendo el isómero *cis-9*, *trans-11*, al que se le atribuyen la mayoría de las propiedades biológicas (Pariza *et al.*, 2000). Con pequeñas cantidades aportadas en la dieta tiene actividad antimutagénica en animales de experimentación, independientemente de la cantidad y el tipo de grasa utilizada (Higgs, 2000). Parece que se comporta como un factor de protección no sólo frente a la carcinogénesis sino también en la aterosclerosis, en la aparición de la diabetes, así como en la reducción de la grasa corporal (antiadipogénico) y aumento de la masa muscular (Cassens, 1999). Debido a estos datos científicos la *National Academy of Sciences* señaló en 1996 que el CLA podía considerarse como el único ácido graso, aparte de los PUFA *n-3*, con capacidad para inhibir la carcinogénesis en animales de experimentación

a niveles tan bajos como 0,25-1 % de la grasa total (Eynard & López, 2003). Hoy en día en EE.UU. la carne y sus derivados se consideran funcionales por su contenido en CLA (ADA, 1999; Pennington, 2002).

El **colesterol** está presente en la fracción insaponificable de la grasa en diferentes concentraciones dependiendo de la especie (Tabla I.11). Se ha señalado que elevados niveles de colesterol en plasma incrementan el riesgo de ECV, no obstante, no existe una relación simple entre el nivel de colesterol en dieta y el nivel de colesterol en sangre. Recientes estudios indican que un mayor factor de riesgo de aterosclerosis y cardiopatía isquémica procede, no de una hipercolesterolemia o de una alta ingesta de colesterol, sino más bien de una elevada relación PUFA *n-6/n-3* en los alimentos (Okuyama & Ikemoto, 1999; Enser, 2000). Por otro lado, el nivel de colesterol de la carne (Tabla I.11) no resulta elevado comparado con otros alimentos de la dieta como huevos (aprox. 410 mg/100 g), mantequilla (250 mg/100 g) o productos de repostería como croissant (130 mg/100 g) (Mataix *et al.*, 1994). El consumo de carnes aporta a la dieta unos 175 mg de colesterol (Tabla I.7), que representa el 56 % de la cantidad máxima diaria recomendada (Tabla I.1).

I.5.1.4.- Minerales.

La carne, constituye una fuente importante de minerales esenciales en la dieta (hierro, cinc, cobre, yodo, fósforo, etc.), además de otros elementos traza, como selenio y magnesio (Tabla I.13).

La carne es pobre en **calcio** a excepción de la recuperada mecánicamente y algunos tipos de carne deshuesada.

Entre los minerales aportados por la carne, destaca el **hierro**, no sólo por su cantidad (Tabla I.13), sino por su biodisponibilidad (no alterada por el cocinado). Dos terceras partes del hierro de la carne se encuentra en forma hemo (presente en la hemoglobina y mioglobina), cuya eficacia de absorción es de 2 a 3 veces mayor que la del hierro no hemo (de los vegetales). La absorción de hierro no hemo es inhibida por la fibra, además de por otros minerales (cinc, cobalto, cobre) y es aumentada por la vitamina C (ácido ascórbico) (Hallberg *et al.*, 1989) y la carne (BNF, 1999; Mulvihill,

2004). Se ha sugerido que en un futuro la carne podría ser considerada y comercializada como alimento funcional por este motivo (Mulvihill, 2004).

La deficiencia de hierro provoca anemia ferropénica, que es uno de los principales problemas de salud pública al afectar entre 20-50 % de la población mundial (Walker, 1998; Beard & Stoltzfus, 2001). Además, provoca carencias en el desarrollo psicomotor en niños, efectos adversos en el desarrollo del feto durante el embarazo y disminución de la capacidad de trabajo (Cook, 1999).

Alrededor del 14-22 % del hierro de la dieta procede del consumo de carne y sus derivados (Tabla I.7) (Higgs, 2000). Estos, además, incrementan la absorción del hierro procedente de otros alimentos de la dieta (Muvihill, 2004). Por ello, una reducción en el consumo de carnes podría dar lugar a que un tercio de las mujeres tengan ingestas insuficientes de hierro [por debajo de la ingesta recomendada (IR) 8 mg/día tanto para hombres como mujeres postmenopáusicas y 18 mg/día para las mujeres en edad fértil] (Moreiras *et al.*, 2003) dando lugar a anemia (Higgs, 2000).

La carne es una fuente importante de **cinc** (Tabla I.13) de mayor biodisponibilidad que en los productos de origen vegetal, como las leguminosas, en los que además su absorción se encuentra inhibida por la presencia de oxalatos y fitatos (Johnson & Walker, 1992; Zheng *et al.*, 1993; Hunt *et al.*, 1995). El cinc participa en reacciones de síntesis o degradación de proteínas, hidratos de carbono, lípidos y ácidos nucleicos. Además, interviene en la composición y actividad de más de 200 enzimas. También participa en la estabilización de la estructura de las proteínas y de los ácidos nucleicos, en la integridad de los orgánulos subcelulares, además de en procesos de transporte, funciones inmunológicas y en la expresión de la información genética (Aggett & Comerford, 1995; Sandstead, 2000). Se considera un elemento importante en la prevención de ciertos tipos de cáncer (Biesalski, 2005). Su carencia produce diversas enfermedades, como el enanismo (por ser fundamental para el crecimiento), siendo fundamental para la cicatrización de las heridas (Sandstead *et al.*, 1990). Las deficiencias en este mineral son bastante frecuentes en la población de la tercera edad, tramo poblacional en continuo aumento y sus consecuencias en la salud están aún por determinar. La carne es la principal fuente de cinc en los países occidentales, ya que alrededor del 27 % del ingerido en la dieta es de origen cárnico (Tabla I.7), lo que

representa más del 20 % de la IR de este mineral (15 mg/día) (Moreiras *et al.*, 2003). Por tanto, sin un adecuado aporte de carne pueden aparecer deficiencias nutricionales de este mineral (BNF, 1999), pudiendo llegar a convertirse en un problema de salud pública (Sandstead, 1995).

Las deficiencias de hierro y de cinc, normalmente ocurren simultáneamente, sobretodo en adolescentes que evitan el consumo de carne (Sandstead, 2000).

Tabla I.13. Contenido en minerales (mg/100g) de la carne ¹ de diferentes especies (Moreiras *et al.*, 2003; USDA, 2004).

	VACUNO (redondo)	CORDERO (pierna)	CERDO (costillas)	POLLO (pechuga)
Calcio	4-21	4-10	23-27	11-12
Hierro	1,74-2,09	1,61-1,94	0,89-1,02	0,72-0,74
Cinc	2,75-4,10	2,95-4,50	2,56-2,95	0,80-1,5
Potasio	341-383	156-342	302-340	220-255
Fósforo	209-219	159-214	173-191	174-196
Magnesio	20-25	17-26	18-21	25-28
Sodio	50-63	40-81	58-67	63-65
Yodo ²	2,8-3,0	2,7	7,6	3,0
Cobre	0,07-0,09	0,10-0,20	0,06-0,07	0,03-0,04
Manganeso	0,01	0,02-0,01	0,01	0,01-0,02
Selenio (µg/100g)	20,3-26,7	2,7-22,80	28,2-32,6	-

¹ Cortes comerciales seleccionados de la tabla I.8.

² MAPA, 2005.

El **selenio** forma parte de la enzima glutatión peroxidasa, que inactiva los peróxidos e hidroperóxidos, por ello el selenio es un importante nutriente esencial como antioxidante y por tanto un protector frente a ECV y ciertos tipos de cáncer (como el de próstata) (Higgs, 2000; Higgs & Mulvihill, 2002). La carne proporciona el 25 % de la IR de este mineral (Moreiras *et al.*, 2003).

El **potasio** ejerce una acción complementaria a la del sodio en el funcionamiento celular, pero a diferencia de éste, es el principal catión intracelular, jugando un papel importante en el mantenimiento del balance hidroelectrolítico y la integridad celular, en la transmisión nerviosa y en la contracción muscular (Carbajal, 2002; Moreiras *et al.*, 2003). La ingesta media de potasio de la población española es de 3,5 g/día, de la cual la carne aporta casi el 13 % (Tabla I.7) (Carbajal, 2002).

La carne además aporta entorno al 20-25% de las necesidades (IR) de **fósforo**, estimadas para un adulto en unos 700 mg/día (Moreiras *et al.*, 2003). Participa en importantes funciones bioquímicas en el metabolismo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas (Higgs & Mulvihill, 2002).

El **magnesio** actúa como cofactor de numerosas enzimas intracelulares, participando en la actividad neuromuscular, en el metabolismo de los hidratos de carbono y una gran parte del mismo se encuentran en los huesos (Moreiras *et al.*, 2003). La carne aporta el 9,2 % de la IR de magnesio (Carbajal, 2002).

La carne es pobre en **sodio**, sin embargo, es muy abundante en muchos derivados cárnicos, al ser incorporado durante su elaboración (Tabla I.13). En cantidades inadecuadas puede tener implicaciones negativas sobre la salud (apartado I.5.2).

También aporta otros minerales como **cobre**, **yodo** y **manganeso** en pequeñas cantidades (Tabla I.13) (Higgs & Mulvihill, 2002).

I.5.1.5.- Vitaminas.

La carne es una excelente fuente de vitaminas del grupo B, como la B₁ (tiamina), B₂ (riboflavina), B₃ (niacina), B₅ (ácido pantoténico), B₆ (piridoxina), B₉ (ácido fólico) y B₁₂ (cobalamina) (Tabla I.14). El contenido de estas vitaminas en la carne varía con numerosos factores como la especie, el tipo de músculo, edad, sexo y el estado de salud general de los animales (Tabla I.14). Además, al ser hidrosolubles se encuentra en gran cantidad en la carne magra. Sin embargo, no son muy estables y puede haber pérdidas durante el cocinado de la carne, dependiendo de la temperatura y del método empleado (Higgs & Mulvihill, 2002).

La **vitamina B₁₂** tiene origen animal principalmente (carne, pescado, leche y huevos), debido a que es originada por la microflora intestinal. Actúa como cofactor de muchas enzimas y en la formación de los glóbulos rojos, por ello una deficiencia de esta

vitamina causa anemia megaloblástica. También juega un papel importante en el mantenimiento del sistema nervioso central (Mulvihill, 2004).

La **vitamina B₆** tiene origen animal y vegetal, pero la procedente de los vegetales no puede ser asimilada por la presencia de glicósidos. Actúa como cofactor de enzimas del metabolismo de las proteínas y de la interconversión de aminoácidos. Además, juega un papel importante en la formación de los glóbulos rojos y en la conversión de la grasa en energía (Mulvihill, 2004).

Las vitaminas B₆ y B₁₂, actúan como cofactores de enzimas que disminuyen los niveles de homocisteína (factor independiente de riesgo cardiovascular) en sangre (McKinley *et al.*, 2001). Esto podría dotar a la carne de otro atributo para ser considerado alimento funcional (Mulvihill, 2004).

La carne es una fuente abundante de **vitamina B₃**, de más fácil absorción que la de origen vegetal (Tabla I.14). Esta vitamina participa en la conversión de hidratos de carbono y grasa en energía, una piel saludable y ayuda a la digestión (Higgs & Mulvihill, 2002).

La **vitamina B₁** se encuentra en cantidades importantes en la carne, principalmente en la de cerdo (Tabla I.14). Actúa como cofactor de enzimas que convierten las grasas e hidratos de carbono en energía y una adecuada función del sistema nervioso (Higgs & Mulvihill, 2002).

La carne es una buena fuente de **vitamina B₂** (Tabla I.14). Esta vitamina actúa como cofactor de enzimas del ciclo de Krebs, que proporcionan energía. Además posee beneficios para la salud de la piel y los ojos (por ello mejora la vista y previene del riesgo de sufrir cataratas). Su deficiencia puede disminuir el apetito, causar anemia e incluso impedir la conversión de triptófano en niacina (fuente principal de esta vitamina) (Higgs & Mulvihill, 2002).

La **vitamina B₅** se encuentra en todos los tipos de carne (Tabla I.14), y aunque existen pérdidas de esta vitamina en los exudados tras la descongelación, no se consideran importantes por su amplia presencia en muchos alimentos. El ácido

pantoténico interviene en la producción de energía, ayuda en la formación de hormonas esteroideas, entre otras funciones (Higgs & Mulvihill, 2002).

El consumo de carne aporta más de un tercio de las recomendaciones (IR) de las vitaminas B₁ y B₆ (0,8-1,1 mg/día y 1,6-2,1 mg/día, respectivamente), más de un cuarto de las de B₂ (1-1,8 mg/día) y por encima del doble de B₁₂ (2 µg/día) (Tabla I.7) (Moreiras *et al.*, 2003).

La naturaleza liposoluble de la **vitamina D** hace que se encuentre en mayor cantidad en las carnes grasas. La deficiencia en su consumo causa raquitismo y osteomialgia, además de pérdida de masa ósea y mayor susceptibilidad a sufrir fracturas de huesos por osteoporosis, debido a su implicación en la asimilación del calcio de la dieta (Fraser, 1995; Dunnigan & Henderson, 1997; De Luca & Zierold, 1998). Esta vitamina también es una importante ayuda para el sistema inmune y protege frente a la tuberculosis, debilidad muscular, diabetes, ciertos tipos de cáncer y ECV (Mulvihill, 2004). Tradicionalmente se ha considerado que la carne contenía cantidades poco importantes de vitamina D, sin embargo, análisis más recientes que incluyen al metabolito 25-hidroxicolecalciferol (que tiene actividad biológica 5 veces mayor que la del colecalciferol) indican que la carne contiene cantidades mayores (Ovensen *et al.*, 2003). Según Higgs (2000) la cantidad de vitamina D aportada a la dieta por el consumo de carne es del 20 % y contribuye significativamente a la IR (5-15 µg/día) (Moreiras *et al.*, 2003).

La **vitamina A** (retinol) es especialmente importante en la carne de pollo, siendo muy escasa en otras especies (Tabla I.14). La vitamina A ha sido relacionada con ciertas actividades fisiológicas beneficiosas para la prevención de ciertos tipos de cáncer (Biesalski, 2005).

Por otro lado, la carne no contiene gran cantidad de **vitaminas C, E, K** (a pesar de estar presentes en algunos órganos como el hígado, riñón, etc.) y **B₉** (que es más abundante en alimentos de origen vegetal) (Tabla I.14).

Tabla I.14. Contenido de vitaminas en carne ¹ de diferentes especies (USDA, 2004).

	VACUNO (redondo)	CORDERO (pierna)	CERDO (costillas)	POLLO (pechuga)
(mg/100g de músculo)				
Vitamina C	-	-	0,7-0,8	1,2
Vitamina B₁	0,08-0,10	0,12-0,15	0,70-0,80	0,06-0,07
Vitamina B₂	0,11-0,19	0,23-0,42	0,24-0,27	0,08-0,09
Vitamina B₃	4,16-6,66	6,34-6,92	3,88-4,32	9,90-11,19
Vitamina B₅	0,34-0,64	0,23-0,50	0,66-0,75	0,80-1,06
Vitamina B₆	0,49-0,65	0,14-0,17	0,41-0,49	0,43-0,55
Vitamina E (α-tocoferol)	0,30-0,33	0,19-0,22	0,18	0,13-0,31
(μg/100g de músculo)				
Vitamina B₉	9-12	18-24	4	4-7
Vitamina B₁₂	1,32-2,84	2,48-2,60	0,75-0,84	0,34-0,38
Vitamina A	-	-	2	6-24

¹ Cortes comerciales seleccionados de la tabla I.8.

I.5.1.6.- Otros componentes.

Del contenido total de nitrógeno de la carne, aproximadamente el 95-98,5 % es proteína y entre un 1,5-5 % corresponde a **compuestos nitrogenados no proteicos**, constituidos por aminas, nucleótidos (algunos son añadidos en alimentos para mejorar la función inmune) y nucleósidos (Cobiac, 2000; Mulvihill, 2004). Entre las aminas presentes en la carne (poliaminas) están la espermidina y la espermina, las cuales se forman de manera natural por síntesis de *novo* en las células (Bardózc, 1995). Se cree que estas pueden jugar un papel importante en la regulación de los ácidos nucleicos, en la síntesis de proteínas y posiblemente en la estabilización de las membranas celulares (Ruiz-Capillas & Jiménez Colmenero, 2004).

También hay pequeñas cantidades de hidratos de carbono glucógeno/lactato (sus concentraciones dependen del estado de maduración de la carne), glucosaminoglicanos y proteoglicanos (presentes en la matriz extracelular del tejido conectivo), además de glicoproteínas (presentes en la sangre), hormonas e intermediarios glucolíticos (el más abundante es la D-glucosa) y glicolípidos (Mulvihill, 2004). Junto a otros componentes minoritarios endógenos de diferente naturaleza (colina, ácido lipóico, coenzima Q₁₀ o ubiquinona, etc.), a los que se ha atribuido efectos beneficiosos para la salud como

propiedades antioxidantes, entre otras, pero todavía son poco conocidas (Decker & Mei, 1996; Overvad *et al.*, 1999; Bast & Haenen, 2002).

I.5.2.- Componentes no cárnicos incorporados durante la elaboración de productos cárnicos.

Existen numerosos componentes en los derivados cárnicos que se incorporan como ingredientes y aditivos durante su elaboración por motivos tecnológicos, microbiológicos o sensoriales (Tabla I.15). Muchos de ellos se han relacionado con implicaciones tanto positivas como negativas sobre la salud, más allá de la motivación para las cuales son incorporados a los productos cárnicos. De entre ellos los que tienen efectos beneficiosos serán estudiados más ampliamente en el apartado I.6.2, mientras que aquellos otros con consecuencias negativas sobre la salud se describen a continuación.

La **sal común** (NaCl) se adiciona a la carne y productos cárnicos por diversos motivos (Tabla I.15), sin embargo, las recomendaciones dietéticas actuales aconsejan su disminución por su relación con la hipertensión arterial (OMS, 2003; 2004; NAOS, 2005). A pesar de que la carne es relativamente pobre en sodio (apartado I.5.1.4), los derivados cárnicos presentan niveles muy superiores, debido a la sal adicionada durante su elaboración, que puede llegar hasta 2 % en productos tratados por el calor y hasta el 6 % o superior en productos crudos curados, debido a que la desecación hace aumentar su proporción. Se considera que un 20-30 % de la ingesta de sal común proviene del consumo de productos cárnicos (Wirth, 1991). Por ello en los últimos años han reducido su contenido, debido tanto a la conveniencia de limitar su presencia, como a la menor dependencia de su efecto conservador. En la actualidad se está poniendo en duda la utilidad de reducciones adicionales cuyos beneficios son muy pequeños o inexistentes confundiendo en muchos casos con la influencia en el organismo de otros factores: genéticos, obesidad, nivel de ejercicio físico, etc. (Cassens, 1999).

Tabla I.15. Principales ingredientes y aditivos incorporados en productos cárnicos (Adaptado de RD 494/1998; Elvira, 2002; Mills, 2004).

Ingredientes/Aditivos	Efecto tecnológico
Colorantes (cochinilla, caroteno, azul brillante, etc.).	Devuelven o añaden color.
Potenciadores del sabor (ácido glutámico, glutamato monosódico, etc.).	Realzan el sabor o aroma.
Edulcorantes (glucosa, lactosa y sacarosa).	Inhibe el crecimiento bacteriano, solubiliza proteínas miofibrilares y aumenta la capacidad de retención de agua (hidratación). Además de su influencia sobre las propiedades sensoriales.
Acidulantes (ácido cítrico, citrato, etc.).	Incrementan la acidez o confieren sabor ácido.
Condimentos y especias (pimentón, pimienta, ajo, perejil, etc.).	Se añaden para dar al producto un sabor determinado.
Emulgentes (almidón, dextrinas, maltodextrinas, proteínas no cárnicas etc.).	Estabilizan la emulsión formada al aumentar la unión (ligazón) entre los componentes de la emulsión.
Estabilizantes (carragenato, almidón, caseinato, alginato, etc.).	Aumentan la viscosidad (espesantes) y confieren una determinada textura mediante la formación de un gel (gelificantes).
Sal común (NaCl).	Inhibe el crecimiento bacteriano, solubiliza proteínas miofibrilares y aumenta la capacidad de retención de agua (hidratación). Además de su influencia sobre las propiedades sensoriales.
Fosfatos	Potencian la capacidad de retención de agua de las proteínas y aumenta su solubilidad, mejoran el color y aroma y actúan como antioxidante.
Conservantes (nitratos, nitritos, etc.)	Evitan el deterioro de los alimentos desencadenado por microorganismos y enzimas. Además desarrollan el color y sabor y actúan como antioxidantes.
Antioxidantes (ácido ascórbico, isoascórbico o eritórbito y sus sales, BHA, BHT, etc.).	Prolongan la vida útil de los productos protegiéndolos de la oxidación. Existen sustancias sinérgicas de los antioxidantes como el ácido cítrico y los citratos.
Humectantes (sorbitol, manitol, etc.).	Impiden la desecación.
Sustitutos de grasa (soja, maíz, trigo, huevo, etc.).	Compensan la reducción de grasa de los productos, mejorando sus características tecnológicas y sensoriales.
Sustitutos de sal (KCl, MgCl ₂ , fosfato, alginato, MTG, lactato, péptidos, etc.).	Compensan la pérdida del efecto que ejerce la sal en el producto.

BHA, butilhidroxianisol; **BHA**, butilhidroxitolueno; **MTG**, transglutaminasa microbiana.

Los **fosfatos** se emplean con diferentes propósitos sensoriales y tecnológicos permitiendo la reducción de sal (Tabla I.15). Según diversos estudios, el aumento de su consumo, producido en los últimos tiempos, puede favorecer la osteoporosis (Sofos, 1989), enfermedad que afecta a un elevado número de mujeres a partir de cierta edad (Palacios *et al.*, 2005). Con motivo de ello se ha impulsado el desarrollo de diversos productos cárnicos elaborados sin fosfatos añadidos. Sin embargo, según otros estudios no parece existir evidencias claras que demuestren que el incremento en fosfatos en la dieta, en condiciones habituales, contribuya a la patogénesis de la osteoporosis (Karanja *et al.*, 1990). Esta enfermedad es una patología multifactorial en la que uno de los factores dietéticos de riesgo proviene del consumo de alimentos procesados que pueden contribuir a dietas con un balance inadecuado de calcio/fósforo (Vaquero, 2001).

Los **nitritos** y/o **nitratos** se incorporan en algunos productos cárnicos (embutidos, curados, etc.) por diversos motivos (Tabla I.15). Sin embargo, se ha cuestionado su utilización por los problemas para la salud que pueden desencadenar, al combinarse con las aminas secundarias para formar nitrosaminas y compuestos N-nitrados (apartado I.5.3), sustancias que se relacionan con la producción de algunos tipos de cáncer y algunas formas de diabetes. Los nitritos pueden ser tóxicos también por ingestión directa (en cantidades de 22-23 mg/kg de peso corporal), sin embargo, en los productos curados se encuentra en dosis tan bajas como 200 ppm o menores, que desecha cualquier posibilidad de riesgo por su consumo. Los nitratos son tóxicos, pero mucho menos que los nitritos y pueden encontrarse también en alimentos de origen vegetal y bebidas (Mills, 2004). El aporte de nitritos procedente del consumo de alimentos de origen vegetal es mayor que el procedente del consumo de carne (Ovesen, 2004). Además de los consumidos en la dieta también pueden originarse nitratos de forma endógena en el organismo a partir de arginina, aunque en mucha menor proporción. En consecuencia su aporte al organismo no puede ser atribuido sólo al consumo de carne (Ovesen, 2004).

I.5.3.- Componentes desarrollados durante la elaboración, conservación y comercialización de la carne y productos cárnicos.

La carne y sus derivados experimentan importantes cambios químicos durante las diversas etapas del proceso de elaboración (picado, curado, ahumado, cocción, etc.) y comercialización (conservación, exposición a la luz, etc.). Como consecuencia de

tales cambios se forman numerosos compuestos, no presentes inicialmente muchos de los cuales contribuyen a impartir características deseables en el alimento. Sin embargo, algunos otros pueden tener propiedades biológicas indeseables, potencialmente tóxicas para la salud, aunque no es fácil establecer sus consecuencias. Entre estos se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos, las aminas biógenas, las N-nitrosaminas, las aminas heterocíclicas y los productos de la oxidación de los lípidos (Jiménez Colmenero *et al.*, 2001). La presencia de estas sustancias ha sustentado varias hipótesis asociando el consumo de carne con problemas de salud. Se ha sugerido que el impacto de este tipo de compuestos puede tener mayor relevancia en relación con el riesgo de enfermar que la carne por sí misma (Carbajal, 2003; Ulrich & Potter, 2004; Carbajal, 2005).

Los **hidrocarburos aromáticos policíclicos** son compuestos derivados de la combustión de la materia orgánica, que en la carne y productos cárnicos aparecen en los procesos de cocinado y ahumado, dependiendo de factores asociados a la composición del producto y al tratamiento térmico aplicado. La importancia de la detección de cantidades variables de estos hidrocarburos en ciertos derivados cárnicos, radica en que algunos de ellos tienen actividad cancerígena (Hotchkiss & Parker, 1990; Forman, 1999). Sin embargo, en base a ciertos estudios actuales no se ha demostrado que su consumo suponga un riesgo para la salud (Falcó *et al.*, 2005).

Las **aminas biógenas** (histamina, tiramina, cadaverina, triptamina, fenilalanina, etc.) se forman por descarboxilación de aminoácidos libres, por enzimas aminoácido descarboxilasas, procedentes de los microorganismos que se desarrollan en la carne y productos derivados (Ruiz-Capillas & Jiménez-Colmenero, 2004). El consumo de alimentos con elevadas concentraciones de estas aminas (productos cárnicos, queso, etc.), han sido identificados como los causantes de algunos problemas de salud como migrañas, dolores de cabeza, problemas gástricos e intestinales y respuestas similares a las alergias, entre otros (Smith, 1980; Taylor, 1985; Stratton *et al.*, 1991). La formación de aminas biógenas en los productos cárnicos se ve afectada por diferentes factores como son el tipo y el contenido de microorganismos, composición del producto y condiciones de procesado (picado, conservación, etc.) (Ruiz-Capillas & Jiménez-Colmenero, 2004). Las temperaturas elevadas favorecen la interacción de las aminas secundarias, formadas a partir de cadaverina y putrescina, con los nitritos de la carne,

dando lugar a la formación de nitrosaminas, con los consiguientes efectos tóxicos (Ruiz-Capillas & Jiménez-Colmenero, 2004).

Las **N-nitrosaminas** (compuestos N-nitrados) son considerados agentes químicos con importantes propiedades cancerígenas, principalmente sobre el tracto intestinal (cáncer de estómago, etc.). Estos compuestos se pueden formar tanto en el producto dependiendo de las condiciones de tratamiento térmico, concentración de sal y nitrito, pH o contenido en ascorbato, como en el estómago del consumidor tras la ingestión de productos que contienen nitratos/nitritos (Pegg & Shahidi, 1997). Según algunos autores existen controversias en cuanto a limitar el consumo de alimentos con posible presencia de N-nitrosaminas, debido a que los estudios epidemiológicos no han sido concluyentes con respecto a la asociación del consumo de estos alimentos y la incidencia de cáncer (Cassens, 1999; Ovesen, 2004).

El calentamiento de la carne a elevadas temperaturas y durante un tiempo prolongado provoca la formación de **aminas heterocíclicas** (mayor formación a mayor tiempo y temperatura). Sólo están presentes en alimentos de origen animal (carne y pescado), debido a que se desarrollan durante las reacciones de Maillard en presencia de creatinina o creatina (precursor de su formación), aminoácidos libres e hidratos de carbono (Persson *et al.*, 2003). Las aminas heterocíclicas son potentes agentes mutagénicos y carcinogénicos (principalmente en hígado, pero también en pulmón, colon y pecho) (Ovesen, 2004).

Por otro lado, los ácidos grasos insaturados y el colesterol pueden experimentar fenómenos de oxidación durante los procesos de elaboración y conservación de la carne y productos cárnicos. Tales fenómenos originan la aparición de numerosos compuestos como **hidroperóxidos, aldehídos, cetonas, óxidos de colesterol**, etc., a algunos de los cuales se le atribuye efectos mutagénicos, cancerígenos y propiedades citotóxicas (Decker & Xu, 1998). En general, la presencia de los productos de oxidación es muy inferior a la que pueden exhibir riesgos de toxicidad. Además, el límite de detección sensorial de estos compuestos es también muy bajo, lo que unido a su habitualmente desagradable aroma y sabor, hace que sea fácilmente detectados en el alimento provocando su rechazo. Esto supone un mecanismo de protección frente a la exposición a elevados niveles de estas sustancias, sin embargo, no se conoce el impacto que a largo

plazo pueden tener en la salud la ingesta continuada de pequeñas cantidades (Hotchkiss & Parker, 1990).

Otros componentes exógenos a considerar son los posibles **residuos** y/o **contaminantes** que puede contener la carne y productos derivados. Proceden fundamentalmente de la contaminación ambiental, consecuencia de usos industriales y agrícolas (pesticidas, metales pesados, etc.), de fármacos empleados en la producción animal (antimicrobianos, compuestos de acción hormonal y tranquilizantes) y de la contaminación producida por contacto del producto con algunos de los materiales empleados en su elaboración, conservación, etc. (desinfectantes o detergentes utilizados en la industria cárnica y migración de compuestos desde el material de envasado al producto). Son compuestos químicos que entrañan un riesgo potencial para el consumidor, presentes en cantidades relativamente pequeñas y habitualmente debido a la acción del hombre. Algunos ejemplos son los antibióticos utilizados en los sistemas intensivos de producción animal, que pueden crear resistencias bacterianas y con posibles consecuencias en la salud (Tarrant, 1998), o los residuos aparecidos en la carne y huevos por la contaminación de dioxinas, encontrados en Bélgica en 1999.

Asimismo, es bien conocido que la carne y los productos cárnicos pueden ser un vehículo de transmisión de **microorganismos patógenos** capaces de producir diversas enfermedades en el hombre. La creciente industrialización ha modificado las prácticas de transformación creando nichos ecológicos que dan oportunidad a nuevos patógenos (llamados “patógenos emergentes”) y para la reaparición de otros ya conocidos. Además, los microorganismos se están adaptando a los procedimientos tradicionales de prevención y control de los mismos, incluyendo tratamientos por frío y calor, pH y técnicas de desinfección (Tarrant, 1998). Entre los microorganismos causantes de enfermedades, presentes en carnes y productos cárnicos, cabe destacar: *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* (Zottola & Smith, 1990).

I.6.- ESTRATEGIAS PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS MÁS SALUDABLES.

Existen varias posibilidades para modificar la composición de la carne y sus derivados con el fin de desarrollar productos cárnicos más saludables, entre ellos los potencialmente funcionales. Dichas posibilidades se encaminan a favorecer la presencia de compuestos beneficiosos y/o limitar la de aquellos otros con efectos negativos para la salud.

Las estrategias seguidas en la actualidad para llevar a cabo estos cambios de composición pueden clasificarse básicamente en dos tipos de actuaciones: genéticas o nutricionales en el ámbito de la producción animal y tecnológica en los sistemas de transformación de la carne (Figura I.6).

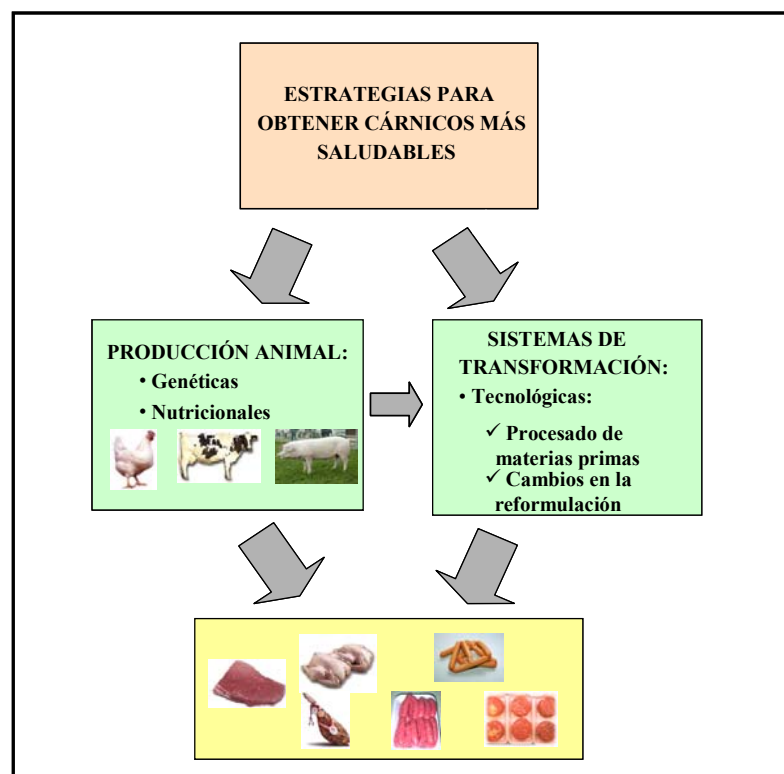


Figura I.6. Estrategias para la obtención de productos cárnicos más saludables.

I.6.1.- Estrategias genéticas y nutricionales.

Existen diversas posibilidades de alterar la composición de las canales y, por tanto, la de los cortes comerciales. Los esfuerzos más significativos se han realizado para reducir el contenido en lípidos, modificar su composición en ácidos grasos, e

incrementar la presencia de antioxidantes (como vitamina E, ubiquinona, carotenoides, etc.) y minerales (hierro, cinc, selenio, etc.) (Lynch *et al.*, 2000). Las estrategias empleadas para este fin son fundamentalmente la selección de razas y líneas genéticas, así como las modificaciones en la alimentación animal. Los mayores cambios se han producido en la fracción lipídica de las canales (componente de más susceptible modificación), permitiendo alcanzar una importante reducción en el contenido en grasa. Reducción que ha llegado a ser en los últimos años, de hasta 30 % en porcino, 15 % en vacuno y 10 % en ovino (Higgs, 2000; Jiménez Colmenero *et al.*, 2001).

La mejora genética, cuyo objetivo es conseguir un cambio genético en una población favorable desde una perspectiva económica y productiva, se basa en la selección y entrecruzamiento de los animales aprovechando la variabilidad existente. En la actualidad, los avances en genética molecular están permitiendo introducir mejoras de un modo más rápido y dirigido (Sellier, 1994). La selección genética destinada a disminuir la cantidad de grasa de la canal ha conseguido animales más magros, carnes con menos grasa infiltrada y mayor proporción de PUFA (Channon *et al.*, 2002; Fortin *et al.*, 2005).

Los ácidos grasos suministrados en la dieta tienen gran relevancia en el perfil lipídico de los animales, en mayor medida en los monogástricos (porcino, aves) que en los rumiantes (vacuno, cordero). Así cabe la posibilidad de ajustar la calidad de sus lípidos a las necesidades humanas: menor nivel de saturación, mayor contenido en MUFA y PUFA, reducir la relación entre PUFA *n-6/n-3* y/o colesterol, así como incrementar el contenido de algún ácido graso específico (como DHA o CLA). La incorporación de grasas vegetales (por ejemplo girasol o cáñola) y de pescado en la alimentación de cerdos dio lugar a canales con lípidos que contenían un elevado nivel de MUFA y PUFA *n-3* (Higgs, 2000; Jiménez Colmenero *et al.*, 2001). Similares estrategias han posibilitado la producción de huevos, carne de pollo y de vacuno con niveles de DHA 20 veces superiores a lo normal, 7 veces mayores a lo habitual de vitamina E y 6 veces el contenido en ácidos PUFA *n-3* que su nivel tradicional (Sloan, 2000).

Para ajustar la relación PUFA *n-6/n-3* se está estudiando introducir en la alimentación animal (vacuno, porcino y aves) ciertas variedades de plantas,

seleccionadas precisamente por su favorable relación en estos PUFA (Okuyama & Ikemoto, 1999).

Por otro lado, potenciar la presencia de ácidos grasos insaturados en la carne supone incrementar la susceptibilidad a la oxidación. Existen diversos medios para minimizar la oxidación de los lípidos, algunos de ellos relacionados con estrategias de alimentación animal, siendo quizá el más significativo la suplementación de la dieta de aves, porcino y vacuno con vitamina E (Decker *et al.*, 2000).

I.6.2.- Estrategias tecnológicas para optimizar la composición de los productos cárnicos.

Las estrategias tecnológicas empleadas para modificar la composición de los productos cárnicos se basan fundamentalmente en procesos de selección de las materias primas tanto cárnicas como no cárnicas y en cambios en la reformulación (reducción o eliminación de compuestos perjudiciales para la salud y/o incorporación de otros que mejoran el carácter funcional).

Una primera actuación previa a los procesos de reformulación, vendría de la **optimización de la composición de las materias primas** a nivel de grasa, colesterol, antioxidantes, etc., con las cuales se van a elaborar los productos. Esto se puede llevar a cabo mediante la selección de la procedencia de la carne y/o a través de procesos físico-químicos realizados sobre los cortes comerciales. Dichos procedimientos abarcan desde los procesos habituales de recortar la grasa manualmente, hasta métodos físico-químicos más complejos basados en la reducción del tamaño de la carne, seguido por una fase de preparación (modificación de pH, fuerza iónica del medio, etc.) hasta llegar a procesos de extracción o separación propiamente dichos, utilizando fenómenos de crioconcentración, centrifugación, etc. (Jiménez Colmenero, 1996).

Por otro lado, las mayores posibilidades para la modificación de la composición de los productos cárnicos y obtención de alimentos más saludables, se obtiene de los procesos de **reformulación**. Estos permiten actuar de forma más rápida y directa de diferentes maneras (reducción, eliminación o incorporación de componentes) para obtener productos cárnicos más saludables y en consecuencia promover el carácter funcional de estos derivados. Dependiendo del tipo de producto (constituido por trozos

de carne identificables, picado grosero o muy fino, emulsiones, aplicación de tratamientos térmicos, curado, etc.) se va a poder actuar en mayor o menor medida sobre las diferentes etapas de su elaboración. A continuación se detallan los cambios en la formulación más relevantes.

I.6.2.1.- Reducción y/o eliminación de compuestos con implicaciones negativas para la salud.

Se considera de especial interés la reducción o eliminación total durante el proceso de elaboración de los componentes de la carne y sus derivados, asociados con efectos negativos para la salud.

I.6.2.1.1.- Grasa y calorías.

Las estrategias tecnológicas destinadas a reducir el contenido en grasa, generalmente responden a dos criterios básicos, por un lado la utilización de materias primas cárnicas más magras y por otro la disminución de la densidad de grasa y calorías (dilución) mediante la adición de agua y otros ingredientes con escasa aportación calórica (proteínas, hidratos de carbono, etc.).

Por ejemplo, es posible disminuir la cantidad de grasa total, SFA y ácidos grasos *trans* mediante la incorporación de imitadores y sustitutos como proteínas de soja, maíz, huevo, trigo etc. (Pietrasik & Duda, 2000; García *et al.*, 2002; Serdaroğlu, 2005) y/o otros compuestos como almidón, pectinas, celulosa, maltodextrinas, etc. (Mendoza *et al.*, 2001; Cáceres *et al.*, 2004), o bien elevando el contenido de fibra (Troutt *et al.*, 1992; Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999; Morin *et al.*, 2004; Yilmaz, 2004), carragenatos (Ruusunen *et al.*, 2003a; 2003b) y agua (Khalil, 2000; Hoffman *et al.*, 2003). Las posibilidades de disminución y su límite tecnológico están condicionados por varios factores (Jiménez Colmenero, 1996). En la actualidad existen en el mercado una gran cantidad de productos con alegaciones relativas a la reducción de la presencia de componentes lipídicos (Tabla I.16).

Al no existir una relación directa entre la cantidad de grasa de la carne y el nivel de colesterol, no siempre resulta posible reducir su contenido simplemente disminuyendo el porcentaje de grasa presente (Jiménez Colmenero *et al.*, 2001). Por

ello la posibilidad de reducir colesterol pasa fundamentalmente por la sustitución de materias primas de origen cárnico, grasa y proteína, por otras de origen vegetal como aceites (cacahuete, cáñola, girasol, oliva, etc.) (Sandrou & Arvanitoyannis, 2000; Pappa *et al.*, 2000; Murguerza *et al.*, 2001; 2002; 2003b) y/o proteínas (soja, maíz, avena, etc.) (Marquez *et al.*, 1989; Clarke, 1997; Paneras *et al.*, 1998) que no contienen colesterol. Algunos de ellos están siendo comercializados en la actualidad (Tabla I.16).

I.6.2.1.2.- Sodio.

Si bien la carne no contiene grandes cantidades de sodio los derivados cárnicos presentan proporciones elevadas (apartado I.5.2). La relación que existe entre niveles elevados de sodio y la hipertensión arterial (OMS, 2003), están impulsando la formulación de productos con menor contenido en sodio (NAOS, 2005).

Con el fin de disminuir los niveles de sodio presente en los productos cárnicos han sido empleados sistemas basados en combinaciones de varios compuestos (KCl, MgCl₂, fosfatos, alginatos, MTG, lactatos, hidrolizados de colágeno, péptidos, citrato sódico, ascorbato cálcico, etc.) que compensen la pérdida del efecto que ejerce en el alimento (Gimeno *et al.*, 2001; Ruusunen *et al.*, 2003a; 2003b; Jiménez Colmenero *et al.*, 2005). Este tipo de derivados cárnicos también ha tenido una importante repercusión comercial (Tabla I.16).

I.6.2.1.3.- Nitritos.

Los nitritos se incorporan por diferentes razones en la elaboración de algunos productos cárnicos (apartado I.5.2). Sin embargo, su presencia en alimentos se ha relacionado con la formación de nitrosaminas (implicadas en actividades carcinogénicas, mutagénicas y teratogénicas) (apartado I.5.3). Por ello se ha considerado necesaria una disminución de su contenido en los alimentos, empleándose para ello diferentes estrategias, asociadas con la utilización de inhibidores de nitrosaminas, caso del ascorbato (Cassens, 1999) o vitamina E (Gray *et al.*, 1982), entre otros.

Tabla I.16. Ejemplos de productos cárnicos disponibles en el mercado con especificaciones acerca de distintos componentes (Adaptado de Jiménez Colmenero, 2005).

Componente y “alegaciones” empleadas en su etiquetado	Productos disponibles en el mercado
LÍPIDOS	
Menos grasa, bajo en grasa, libre de grasa, X % libre de grasa, sin grasa animal añadida, 0 % de grasa saturada, libre de grasa <i>trans</i> , menos colesterol, bajo en colesterol. Bajo en calorías. Con omega 3 (<i>n-3</i>) y omega 6 (<i>n-6</i>), extra omega 3. Con ácido linoleico conjugado (CLA). Con aceite de oliva.	Salchichas, hamburguesas, jamón cocido, pechuga de pavo, bacon, snacks, longaniza, morcilla, mortadela chorizo, salchichón, etc.
SALES	
Menos sal, bajo en sal, sin sal añadida, 50 % menos sodio, bajo en sodio, sin fosfatos añadidos, sin nitrito o nitrito añadido.	Salchichas, jamón cocido, bacon, etc.
ALERGENOS	
Sin gluten y sin lactosa, libre de gluten, libre de alergenios.	Salchichas de cerdo ¹ , hamburguesas ¹ , albóndigas ¹ , jamón cocido, derivados de aves, etc.
PROTEÍNAS, PÉPTIDOS Y AMINOÁCIDOS	
Enriquecido con soja, L-Carnitina.	Salchicha de cerdo ¹ , jamón cocido, salami, etc.
PREBIÓTICOS	
Prebiótico, enriquecidos en fibra alimentaria, fibra soluble.	Salchichas, derivados de aves, jamón cocido.
PROBIÓTICOS	
Bífidus, bacterias probióticas.	Chorizo, producto cárnico untable fermentado ¹ .
ANTIOXIDANTES	
Con vitaminas E-C, enriquecido con 8 vitaminas.	Salchichas, pastel de pavo, bacon de pavo, mortadela, jamón cocido, etc.
FITOESTEROLES	
Enriquecidos con esteroides vegetales o estanoles.	Salchichas, albóndigas de pollo, etc.
MINERALES	
Con calcio, extra calcio.	Pechuga de pavo, salchichas.

¹ Producto FOSHU (Arihara, 2004).

I.6.2.1.4.- Eliminación de alergenios.

Algunos de los ingredientes que se utilizan en la elaboración de los productos cárnicos (proteínas vegetales, huevos o proteínas de la leche, etc.) (apartado I.5.2) contienen sustancias capaces de provocar reacciones de intolerancia y/o alérgicas en algunos consumidores. La exclusión de tales ingredientes ha originado unos productos (salchichas de cerdo, hamburguesas y albóndigas) denominados “*Apilight*” (“*allergen-free*” o “libres de alergenios”), aprobados en Japón como alimentos FOSHU (Arihara, 2004). Derivados cárnicos libres de gluten y lactosa están disponibles en el mercado (Tabla I.16).

I.6.2.2.- Incorporación de compuestos con implicaciones positivas para la salud.

En la elaboración de derivados cárnicos se emplean diversos ingredientes no cárnicos con diferentes propósitos (apartado I.5.2). A pesar de que alguno de ellos contenga compuestos bioactivos (con efectos funcionales), apenas se han utilizado unos pocos para incidir en aspectos beneficiosos para la salud. En muchos casos no se han realizado estudios más allá de sus propiedades tecnológicas durante la elaboración, conservación o tratamiento térmico, sin ser evaluada su actividad biológica y posible efecto funcional en el organismo.

Algunos de estos ingredientes se pueden englobar dentro de la clasificación descrita por Goldberg (1994), en la cual se establecen doce grupos de ingredientes (de origen animal y vegetal), capaces de actuar favorablemente en la salud humana: fibra dietaria; oligosacáridos; azúcares-alcoholes; proteínas, péptidos y aminoácidos; glucósidos; alcoholes; isoprenos y vitaminas; colina; bacterias ácido lácticas; minerales; ácidos grasos insaturados y por último otros no incluidos en los grupos anteriores (por ejemplo antioxidantes). Favorecer la presencia de uno o varios de estos ingredientes en los elaborados cárnicos proporciona una amplia gama de posibilidades, alguna de las cuales han sido investigadas e incluso explotadas comercialmente (Jiménez Colmenero *et al.*, 2001) (Tabla I.16).

La incorporación de estas sustancias se ha realizado de manera directa, o como constituyente de alguno de los ingredientes (extractos, harinas, concentrados, homogenizados, etc.) empleados en la formulación de los productos, dotándolos de

cierto carácter de alimento potencialmente funcional. Algunos de ellos han sido o están siendo sometidos a diversos estudios de forma aislada y/o formando parte del producto final, a veces con resultados contradictorios. Esto es debido a que además de la actividad específica de los componentes en el complejo sistema en el que son introducidos, hay que evaluar las consecuencias de los procesos de transformación, conservación y comercialización, así como las condiciones de consumo.

A continuación, se describen los componentes más estudiados en relación con los productos cárnicos, cuyos efectos beneficiosos para la salud han sido claramente identificados.

I.6.2.2.1.- Lípidos.

La preparación de cárnicos con un perfil lipídico más saludable ha sido realizada a través de la formulación de productos reduciendo la grasa animal e incorporado aceites de pescado o vegetales, dando lugar a productos con un menor contenido en SFA y/o colesterol, mayor cantidad de ácidos grasos insaturados, ácidos grasos específicos (como PUFA *n-3*) y mejoras en la relación *n-6/n-3*.

Algunos de estos productos cárnicos (hamburguesas, chorizos, salchichas, etc.) se han elaborado con la incorporación de diversos aceites como el de oliva (Pappa *et al.*, 2000; Mugerza *et al.*, 2001; 2002; 2003a; Severini *et al.*, 2003; Ansorena & Astiasará, 2004a; Lureña-Martínez *et al.*, 2004), girasol y linaza (Paneras *et al.*, 1998; Yilmaz *et al.*, 2002; Hoz *et al.*, 2004; Ansorena & Astiasarán, 2004b), cacahuete (Márquez *et al.*, 1989), pescado (Park *et al.*, 1989), algas (Lee *et al.*, 2006), soja (Mugerza *et al.*, 2003b) o bien CLA (Joo *et al.*, 2000; Chae *et al.*, 2004; Hur *et al.*, 2004) o bien otros tipos de aceites vegetales (Vural *et al.*, 2004). Algunos de estos productos están comercializados en la actualidad (Tabla I.16).

I.6.2.2.2.- Proteínas, péptidos y aminoácidos.

Derivados proteicos de diferentes orígenes vegetal, animal y microbiano han sido utilizados en la elaboración de productos cárnicos con propósitos tecnológicos, rebajar costos de formulación, o incluso por su valor nutritivo (Tabla I.17). Algunos de

ellos tienen sustancias que benefician la salud, como es el caso de algunas proteínas vegetales (soja, avena, girasol, trigo, maíz, etc.).

Tabla I.17. Proteínas no cárnicas utilizadas en la elaboración de productos cárnicos (Jiménez Colmenero, 2004).

Origen de la proteína	
Animal	Leche, pescado (surimi), derivados de la carne (tejido conectivo, sangre, carne separada mecánicamente, etc.), huevo.
Vegetal	Soja, girasol, cacahuetes, algodón, semilla de colza. Cereales: Maíz, trigo, avena, arroz. Legumbres: guisantes, judías.
Microbiano	<i>Streptovercillium mobaraense</i> (MTG EC 2.3.2.13).

Entre las proteínas que se han utilizado en la elaboración de productos cárnicos, la más ampliamente estudiada ha sido la proteína de soja (Tsai *et al.*, 1998; Chin *et al.*, 1999; 2000; Porcella *et al.*, 2001; Feng *et al.*, 2003), a la cual junto con otros compuestos bioactivos que la acompañan se le atribuyen muchos beneficios para la salud, como prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer, osteoporosis y alivio de los síntomas menopáusicos (Hasler, 1998; Jiménez Colmenero *et al.*, 2001; Halsted, 2003). Su presencia como agente funcional está siendo aprovechada por la industria en la formulación de productos cárnicos (Tabla I.16). Además han sido empleadas otras proteínas vegetales como la proteína de trigo (Sadler, 2004) y harina de leguminosas (Modi *et al.*, 2003), entre otras. En algunos casos mejoran la calidad aminoacídica del producto, por su elevada proporción de arginina y baja relación lisina/arginina, constituyendo una combinación muy favorable para la prevención de hipercolesterolemias y agregación plaquetaria (Jiménez Colmenero, 2004). La FDA ha autorizado a varios de estos ingredientes vegetales la declaración de sus efectos beneficiosos para la salud (“*health claims*”), como por ejemplo la avena (1990) y la soja (1999). En Alemania han sido comercializados productos cárnicos enriquecidos con L-Carnitina (Tabla I.16) (Anónimo, 2002).

I.6.2.2.3.- Prebióticos, probióticos y simbióticos.

Se han preparado diversos productos cárnicos con prebióticos y probióticos, a fin de modificar de forma beneficiosa la microflora intestinal, incrementando las cantidades de bifidobacterias y/o lactobacilos.

El consumo de fibra en España (2002) se estimó en unos 22 g/día o inferior (MAPA, 2005), no alcanzándose por tanto el consumo diario recomendado (Tabla I.1). Su presencia en diferentes tipos de alimentos puede contribuir a paliar este déficit. Algunos cárnicos con **prebióticos** han sido desarrollados mediante la incorporación de oligosacáridos y fibra dietética. Este es el caso de aquellos a los que se ha incorporado el fructooligosacáridos inulina (Pszczola, 1998; Sloan, 2000; Archer *et al.*, 2004; Cáceres *et al.*, 2004), ampliamente estudiado tanto en Europa como en Japón formando parte de numerosos productos cárnicos (Mendoza *et al.*, 2001). Además, han sido empleados diversos tipos de fibras dietéticas (soluble e insoluble) como por ejemplo fibra de cítricos (Fernández-Ginés *et al.*, 2004; Fernández-López *et al.*, 2004), trigo (Jiménez Colmenero *et al.*, 2005), melocotón (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999), arroz (Kim *et al.*, 2000), centeno (Yilmaz, 2004), avena (Steenblock *et al.*, 2001) cebada (Morin *et al.*, 2004) o avellana (Turhan *et al.*, 2005), entre otras. Algunos cárnicos con prebióticos están comercializados en la actualidad (Tabla I.16).

Productos cárnicos **probióticos** han sido inoculados con bacterias ácido lácticas ("*Bifidobacterium spp.*" o "*Lactobacillus casei*"), microorganismos presentes en procesos fermentativos, que poseen efectos hipocolesterolemiantes, anticancerígenos y acciones antagonistas frente a patógenos, y que se emplean como ingredientes funcionales (Knorr, 1998). Algunos ejemplos se han desarrollado en embutidos (tratados en condiciones específicas para asegurar la actividad microbiana) a nivel experimental (Työppönen *et al.*, 2003) y otros están comercializados actualmente (Tabla I.16).

También pueden resultar de interés productos en los que se mezclan ambos efectos, prebiótico y probiótico obteniéndose los llamados **simbióticos** (Arihara, 2004).

I.6.2.2.4.- Antioxidantes.

Diferentes evidencias sugieren que los antioxidantes ingeridos en la dieta contribuyen a prevenir el daño oxidativo en el organismo y reducir el riesgo de sufrir ciertas enfermedades, como las ECV, algunos tipos de cáncer, Alzheimer, etc. Por otro lado limitar la oxidación de los lípidos en el alimento también resulta fundamental por cuanto que algunos compuestos que se originan están implicados en el inicio o el progreso de procesos de envejecimiento, cáncer, EVC y cataratas, entre otras (Lee *et al.*, 1998; Johnston, 2003). Por ello resulta de especial interés su incorporación o incremento en los alimentos de consumo frecuente.

El contenido en antioxidantes de diferentes productos cárnicos ha sido mejorado mediante la incorporación de:

- 1) **Carotenoides** con la incorporación de pulpa de tomate (rica en licopeno) (Yilmaz *et al.*, 2002; Sánchez-Escalante *et al.*, 2003; Østerlie & Lerfall, 2005), zanahoria y batata (ricas en provitamina A) (Saleh & Ahmed, 1998; Suresh Devatkal *et al.*, 2004).
- 2) **Ácido ascórbico** (vitamina C) por la incorporación de vitamina C, de forma aislada (Sánchez-Escalante *et al.*, 2001), o bien formando parte de ingredientes como cítricos (Fernández-López *et al.*, 2004) o miel (Pszczola, 1998; O'Connell *et al.*, 2002).
- 3) **Tocoferoles** (vitamina E) mediante la adición directa de vitamina E en productos cárnicos (Miles *et al.*, 1986; Hoz *et al.*, 2004) o bien formando parte de ingredientes que lo contienen, como por ejemplo incorporando germen de trigo (Gnanasambandam & Zayas, 1992).
- 4) **Fitatos** han sido incorporados directamente en productos cárnicos reestructurados de vacuno (Lee *et al.*, 1998) o bien como componentes de ingredientes vegetales (cereales, leguminosas, etc.) incorporados en vacuno asado (Kim *et al.*, 2000).

Diversos productos cárnicos enriquecidos en antioxidantes están siendo comercializados en la actualidad (Tabla I.16).

I.6.2.2.5.- Minerales.

Algunos productos cárnicos han sido enriquecidos en diversos minerales como hierro, calcio (Harris, 1998), magnesio, etc., mientras que otros (cobre, magnesio, manganeso, etc.) han incrementado su presencia en el producto al formar parte de los ingredientes incorporados. Salchichas enriquecidas en calcio están siendo comercializadas (Tabla I.16).

I.6.2.2.6.- Fitoesteroles.

Los fitoesteroles son los esteroides vegetales presentes en la mayoría de las plantas. Al tener una estructura muy similar al colesterol compiten con él durante su absorción en el tracto intestinal y biliar, decreciendo sus niveles en plasma (efecto hipercolesterolemizante) (Ikeda & Sugano, 1998). La FDA (2000) ha reconocido sus efectos beneficiosos en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. Algunos productos cárnicos comercializados en Finlandia, contienen estos compuestos en su formulación (Tabla I.16) (Leino, 2001). A pesar de que actualmente no se encuentran los productos cárnicos entre los alimentos donde está permitido su uso (Reglamento (CE) n° 258/97 del Parlamento Europeo y del Consenso).

I.6.2.2.7.- Fitoestrógenos.

Las isoflavonas son un importante fitoestrógeno que se encuentra en varios de los ingredientes vegetales incorporados en los cárnicos. La soja es una de las fuentes más importantes de estas y junto a su proteína se les ha considerado de importancia en la prevención de enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer, en el tratamiento de enfermedades renales, además de aliviar los síntomas de la menopausia (Hasler, 1998). Existen muchos productos que incorporan isoflavonas de soja (Umphress *et al.*, 2005) u otras procedentes de cítricos (Fernández-López *et al.*, 2004).

I.6.2.2.8.- Otros componentes.

Existen otros componentes que se incorporan en los cárnicos y que no han sido descritos anteriormente. Además, los ingredientes que se añaden durante la reformulación de productos cárnicos, a menudo están formados naturalmente por combinaciones complejas de compuestos fitoquímicos bioactivos beneficiosos (Pennington, 2002). Por ello la adición de ciertos ingredientes conlleva la incorporación de otros diferentes más allá de los objetivos iniciales. Por ejemplo con la fibra de cítricos también se incorpora ciertos polifenoles y flavonoides (Fernández-López *et al.*, 2004), isoflavonas con la de proteína de soja (Sadler, 2004), o compuestos sulfurados con la cebolla (Pennington, 2002).

I.7.- IMPLICACIONES DE LOS COMPONENTES BIOACTIVOS DE LAS NUECES EN LA SALUD.

Existen estudios epidemiológicos que demuestran que los frutos secos presentan beneficios sobre la salud, relacionando su consumo con una menor incidencia del riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares (Lavedrine *et al.*, 1999; Sabaté, 1999). También presentan efectos beneficiosos sobre varios tipos de cáncer, diabetes tipo 2 y obesidad (Fraser, 1999; González *et al.*, 2001; Rui Jian *et al.*, 2002). Estas evidencias ponen de manifiesto que la ingesta de frutos secos es una forma fácil de prevenir las enfermedades que son la mayor causa de morbi-mortalidad del mundo occidental (Krauss *et al.*, 2000).

El consumo regular de **nueces** produce una disminución entre un 4-12 % del colesterol total y un 8-16 % del LDL-colesterol (Sabaté *et al.*, 1993; Chisholm *et al.*, 1998; Iwamoto *et al.*, 2000; Zambón *et al.*, 2000). Sin embargo, los efectos entorno al HDL-colesterol son dispares, un estudio demostró una reducción en un 5 % (Sabaté *et al.*, 1993), otro ha detectado un incremento de un 14 % (Chisholm *et al.*, 1998), mientras que otros no han encontrado cambios (Zambon *et al.*, 2000; Iwamoto *et al.*, 2000). En cuanto a los triglicéridos ciertos estudios no mostraron variaciones (Sabaté *et al.*, 1993; Chisholm *et al.*, 1998; Iwamoto *et al.*, 2000), sin embargo, en otro se observó una reducción de un 68 % de los triglicéridos plasmáticos (Zambon *et al.*, 2000).

Según Zambon *et al.*, (2000) el efecto hipocolesterolemiante de las nueces puede ser comparable al observado en otras fuentes de ácidos grasos insaturados como el aceite de oliva. Además después del consumo de nueces, las LDL-colesterol no incrementan su oxidabilidad comparadas con las aisladas tras la ingesta de una dieta tipo mediterránea (Zambon *et al.*, 2000).

Los responsables de los efectos de las nueces sobre la salud son sus componentes bioactivos (muchos de ellos esenciales), que actúan sobre diversos biomarcadores (Fraser, 1999; Kris-Etherton *et al.*, 2001).

La composición mayoritaria de los frutos secos (agua, proteínas, lípidos, hidratos de carbono y fibra) es similar en todos ellos (Tabla I.17). Sin embargo, dos son los elementos principales que hacen a las nueces poseer una composición única y diferente

al resto de frutos secos, su perfil lipídico (elevado contenido en PUFA *n-3*) y su contenido en antioxidantes. El contenido en PUFA *n-3* se debe principalmente al LNA, presente en una proporción de hasta el 6 %, mientras que en otros frutos secos no llega al 1 % (Figura I.7). Por ello se puede considerar la fuente más importante de LNA, después de la procedente del consumo de pescado (Albert *et al.*, 2002). Además poseen un perfil lipídico excelente desde el punto de vista nutricional (Tabla I.18), siendo los ácidos grasos oléico y LA más del 75 % del total de lípidos, mientras que los SFA no superan el 7 % (Tabla I.18).

Tabla I.17. Composición media (%) de frutos secos de mayor consumo (USDA, 2004).

	ALMENDRA (<i>Prunus amygdalus</i>)	AVELLANA (<i>Corylus avellana</i>)	CACAHUETE (<i>Arachis hypogaea</i>)	NUEZ (<i>Juglans regia</i>)
Agua	4,4	5,4	6,5	4,1
Proteína	20	13	26	15,2
Lípidos	52	63	49	65,2
H. de carbono	20	15	16	13,7
Fibra	11	6	9	6,7
kcal/100 g	589	632	567	654

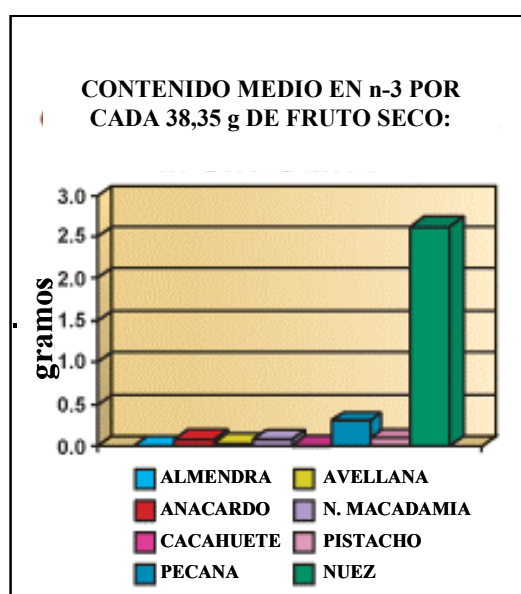


Figura I.7. Contenido en PUFA *n-3* de los frutos secos (Adaptado de California Walnuts, 2005).

Asimismo, las nueces se encuentran entre los alimentos vegetales que más cantidad de **antioxidantes** poseen, siendo los principales la vitamina E, polifenoles, selenio, cinc, magnesio y el ácido fólico (Tabla I.18) (Brown *et al.*, 2001; Halvorsen *et al.*, 2002). El contenido en **vitamina E** (tocoferol) de las nueces es elevado comparado con otros frutos secos (almendras, avellanas). Las nueces contienen niveles muy bajos de α -tocoferol (2 mg vs. 25 mg/100 g en avellanas y almendras), pero altos de γ -tocoferol (40 mg vs. 2 mg/100 g en avellanas y almendras) (Souci *et al.*, 1989). En estudios epidemiológicos de sujetos con enfermedad coronaria isquémica, que han sufrido infarto de miocardio, se han detectado bajos niveles de γ -tocoferol en sangre, pero no de α -tocoferol (Ohrvall *et al.*, 1996; Kristenson *et al.*, 1997; Kontush *et al.*, 1999; Ruiz-Rejón *et al.*, 2002). Esto puede ser debido entre otros factores a que las células prefieren la captación de γ -tocoferol y este a su vez favorece la captación de α -tocoferol, activando de este modo su efecto antioxidante (Gao *et al.*, 2002).

Tabla I.18. Contenido medio en ácidos grasos, minerales, vitaminas E y B₉, y fitoesteroides de las nueces (*Juglans regia*) (USDA, 2004).

ÁCIDOS GRASOS (g/100 g)		MINERALES (mg/100 g)	
16:0	4,40	Calcio	98,00
C18:0	1,66	Hierro	2,92
C20:0	0,06	Magnesio	158,00
SFA	6,12	Fósforo	346,00
C18:1 <i>n-9/n-7</i>	8,80	Potasio	441,00
C20:1 <i>n-9/n-11</i>	0,13	Sodio	2,00
MFA	8,93	Cinc	3,09
C18:2 <i>n-6</i>	38,09	Cobre	1,58
C18:3 <i>n-3</i>	9,08	Manganeso	3,41
PUFA	47,17	Selenio (μ g/100 g)	4,90
VITAMINAS (mg/100 g)		FITOESTEROLES (mg/100 g)	
Vitamina E ¹	43,5	Estigmasterol	1
α -tocoferol	0,7-1,9	Campesterol	7
β -tocoferol	0,15	β -sitosterol	64
γ -tocoferol	20,8-40,4		
δ -tocoferol	0,2-1,9		
Ácido fólico (μ g/100g)	98,00		

¹ Souci *et al.*, 1989; USDA, 2004.

Debido a su origen vegetal las nueces no poseen colesterol, pero si en cambio **fitoesteroles** como β -sitosterol (en mayor proporción), el estigmasterol y el campesterol (Tabla I.18), que poseen propiedades hipocolesterolemiantes debido a su similitud estructural con el colesterol. Ingestas elevadas de estos compuestos reducen la absorción del colesterol intestinal y biliar, decreciendo los niveles plasmáticos de colesterol (Ikeda & Sugano, 1998).

También poseen **fibra** mayoritariamente de tipo insoluble (Tabla I.17), que ejerce protección cardiovascular, la soluble mejora el control de la glicemia y es útil en la prevención y tratamiento de la obesidad (Jenkins *et al.*, 2000).

Asimismo, las nueces contienen **proteínas** de alto valor biológico, ricas en arginina (2,28 g/100 g) y poseen un bajo contenido en lisina (0,42 g/100 g), proporcionando una baja relación lisina/arginina (0,28), favorable para la prevención de hipercolesterolemias y la agregación de las plaquetas. La arginina también posee un efecto inmunomodulador y precursor del óxido nítrico, vasodilatador endotelial capaz de reducir la adhesión y la agregación de las plaquetas (Sabaté *et al.*, 1993). Su déficit va unido con una disfunción endotelial y por tanto un aumento del riesgo cardiovascular (Brown & Hu, 2001).

I.8.- REESTRUCTURADOS CÁRNICOS.

Como se ha señalado anteriormente una de las mayores posibilidades para modificar la composición de los derivados cárnicos y obtener nuevos productos, deriva de los procesos de reformulación (apartado I.6.2). En este sentido se han llevado a cabo numerosos estudios, realizados principalmente en productos tipo emulsión (salchichas, mortadelas, etc.), hamburguesas, etc., sin embargo, los productos reestructurados han sido poco estudiados a pesar de las ventajas y posibilidades que ofrecen.

I.8.1.- Productos reestructurados: ventajas y posibilidades.

Se consideran **reestructurados** aquellos productos elaborados a partir de materias primas cárnicas que tras un cierto proceso de desintegración estructural (troceado, picado, etc.), son sometidas a diversos tratamientos de reestructuración, a fin de impartirles las características propias de los productos que pretenden imitar: filetes (Figura I.8), porciones magras, carne para asar, etc. Suelen ser comercializados como productos crudos (refrigerados o congelados) y precocinados o cocinados (Mandingo, 1988; Cambero *et al.*, 1991). La elaboración de los reestructurados se fundamenta en procesos tecnológicos que permiten obtener productos con diferente composición química, tamaño de partícula e ingredientes no cárnicos, dando lugar a productos diferentes de la carne de la que proceden.

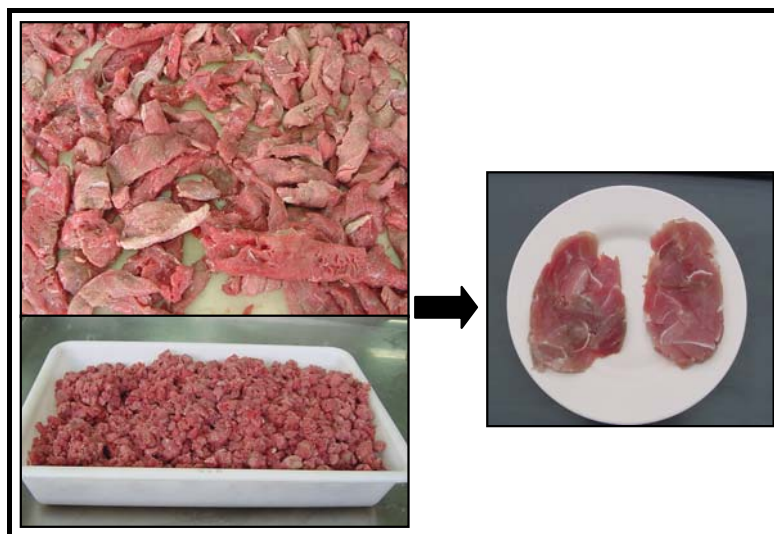


Figura I.8. Ejemplo de filetes reestructurados.

Entre las ventajas y posibilidades que ofrecen los productos reestructurados cabe destacar las que se destacan a continuación (Schmidt *et al.*, 1987; Cambero *et al.*, 1991; Tarrant, 1998; Boles & Shand, 1999; Resurreccion, 2003).

A. Revalorización de las materias primas cárnicas.

Fue uno de los primeros objetivos al permitir el empleo de subproductos (coproductos) o partes de la canal de bajo valor comercial para su transformación, proporcionando al consumidor productos de calidad y a mejores precios.

B. Posibilidad de ampliar la gama de productos cárnicos ofertados.

Esta tecnología permite obtener productos prácticamente de cualquier forma o tamaño, diversificando la oferta. La manera de comercialización más frecuente de los reestructurados cárnicos es congelada o precocinada. Se están comenzando a utilizar agentes que permiten ligazón en frío (sin procesos de calentamiento), que hacen posible la elaboración de reestructurados frescos refrigerados, semejantes a la mayoría de los derivados cárnicos de similar naturaleza comercializados en la actualidad.

C. Control exacto y reproducible del peso, atributos sensoriales y propiedades tecnológicas del producto.

Esto hace posible elaborar reestructurados con características uniformes y convenientes en cuanto a tamaño y forma (permitiendo además la automatización de su elaboración), comportamiento a la cocción, textura, etc. Esto significa acercar sus características a las exigencias actuales del mercado, que demanda porciones regulares e individuales, de calidad constante, preparación sencilla y rápida, para una mayor comodidad de consumo.

D. Formulación de productos de composición garantizada y ajustada.

La posibilidad de condicionar la composición permitirá la elaboración de cárnicos con propiedades de alimento funcional, adecuando el producto a las recomendaciones nutricionales actuales. Además esto puede contribuir a cambiar la imagen negativa que existe de algunos productos cárnicos.

I.8.2.- Elaboración de reestructurados cárnicos.

El proceso de elaboración de reestructurados cárnicos implica operaciones de adecuación de la materia prima cárnica, reducción del tamaño de la misma, mezcla con los distintos ingredientes y moldeado del producto, entre las más importantes (Figura I.9).

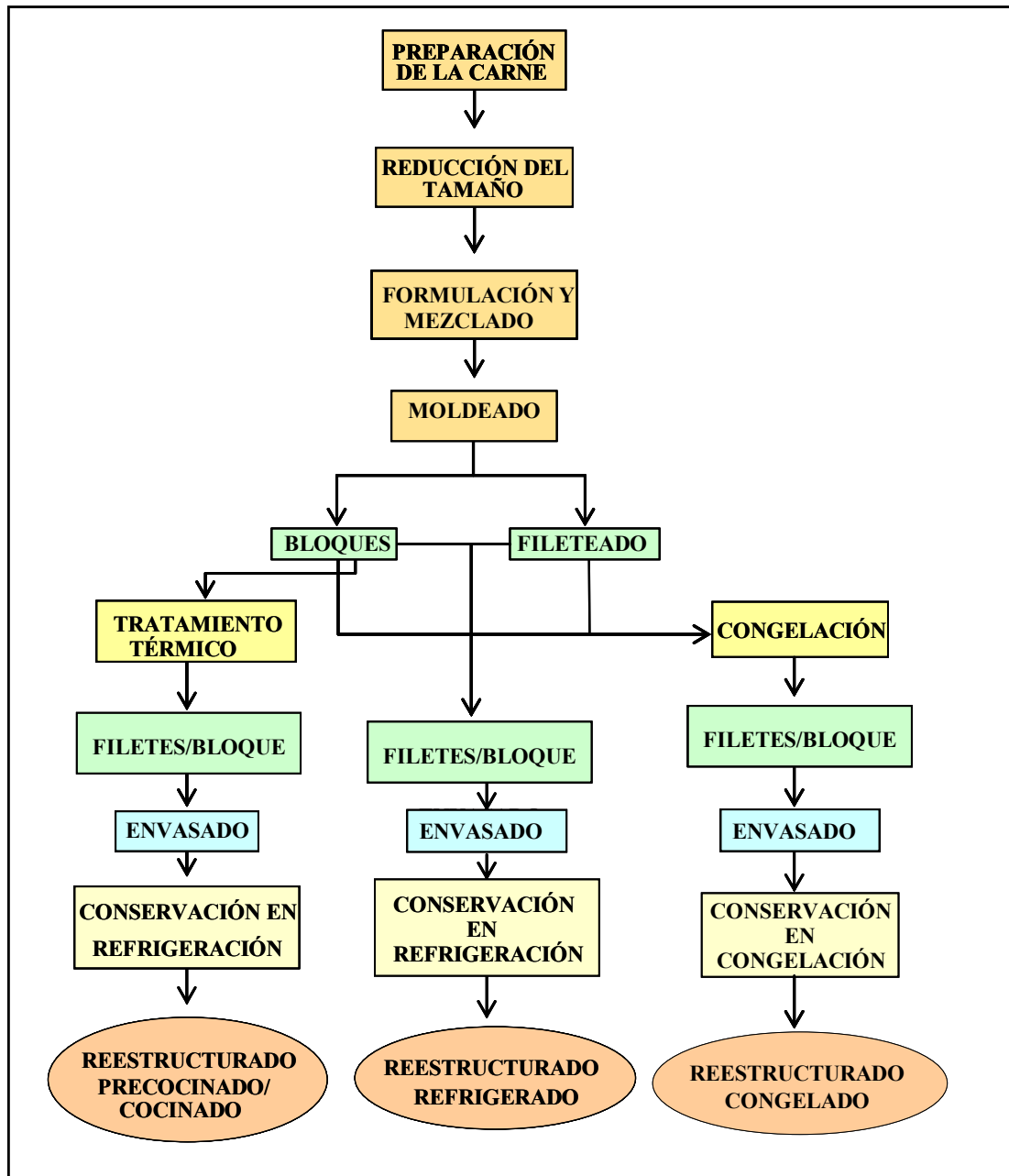


Figura I.9. Resumen del proceso de elaboración de reestructurados cárnicos (Adaptado de Booren & Mandingo, 1987; Secrist, 1987; Cambero *et al.*, 1991; Sheard, 2002).

I.8.2.1.- Preparación de la materia prima cárnica.

Previo la desintegración estructural de la materia prima se realiza una serie de operaciones encaminadas a eliminar el exceso de grasa, la presencia de hueso, tendones, etc., así como reducir los efectos de la dureza y mejorar la eficacia del resto de etapas (Figura I.9).

Para conseguir un mejor aprovechamiento de las porciones cárnicas de mayor dureza, se pueden emplear **métodos físicos** de ablandamiento que contribuyen a una desintegración estructural, permitiendo una mayor liberación de proteínas miofibrilares (apartado I.8.3.2.4.1). Para este fin se pueden utilizar sistemas multiagujas, cuchillas múltiples, bombos de masaje o ultrasonidos de baja frecuencia (Booren *et al.*, 1981a; 1981b; Flores *et al.*, 1986). A pesar de ser menos utilizados se han empleado también **métodos** de ablandamiento **químicos** (Whiting *et al.*, 1987; Rolan *et al.*, 1988).

I.8.2.2.- Reducción del tamaño de la materia prima cárnica.

La reducción del tamaño de partícula además de disminuir la dureza, incrementa el área superficial facilitando el acceso y extracción de las proteínas miofibrilares (Figura I.9). El grado de fraccionamiento de los productos puede ser muy diverso e incluso puede haber varios tipos en un mismo producto, lo que proporciona un aspecto diferente al ofrecido por una carne picada tradicional. Puede encontrarse desde un picado fino hasta pequeños músculos enteros, o un desmenuzado o picado más o menos grosero, cubos y láminas o copos de carne (Huffman & Cordray, 1982). El tamaño de partícula entre 0,8-1,5 cm da como resultado productos más parecidos al músculo entero (Berry *et al.*, 1987; Raharjo *et al.*, 1995).

Para llevar a cabo el proceso de reducción se pueden emplear uno o varios de los siguientes equipos: picadora (Figura I.10), cutter, troceadora y cortadora en cubos, etc., que se adaptan a diferentes grados de reducción y condiciones de procesado. Este proceso de desintegración se debe llevar a cabo a temperaturas controladas, para evitar la pérdida de aptitud tecnológica de las proteínas miofibrilares (apartado I.8.3.2.2).

El proceso de desintegración de la carne afecta a diversas características del producto reestructurado (textura, capacidad de retención de agua, propiedades

sensoriales, etc.). Con el objetivo de determinar el efecto del grado de picado de la carne en la cohesión y gelificación del producto, han sido realizadas diversas investigaciones (apartado I.8.3.2.1).



Figura I.10. Proceso de picado de la carne.

I.8.2.3.- Mezclado de los ingredientes.

El proceso de mezclado de la carne e ingredientes (Figura I.9) tiene diferentes funciones: poner en contacto de manera homogénea todos los componentes que formarán el producto final, aumentando además la ruptura de las fibras musculares, lo que favorece la liberación de los componentes intracelulares.

Este proceso se suele llevar a cabo en mezcladoras de cuba horizontal, dotadas de palas que se mueven lentamente y en trayectorias opuestas, provocando un efecto de amasado (Figura I.11). Este proceso no debe degradar en exceso la estructura de las porciones cárnicas, debiendo ser controlada la temperatura inicial y final del proceso, así como el tiempo de mezclado (apartados I.8.3.2.2 y I.8.3.2.3, respectivamente). También es importante tener en cuenta el orden en la incorporación de los distintos ingredientes, por ejemplo en el caso que se adicione grasa (o cualquier ingrediente con elevada proporción de grasa), se debe hacer después de haber mezclado la porción cárnica magra con el agua, las sales y permitir la solubilización de proteínas.

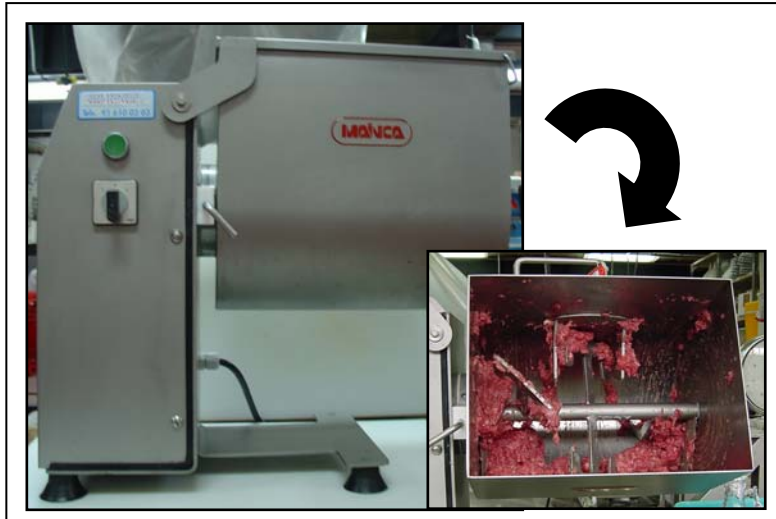


Figura I.11. Proceso de mezcla de los ingredientes en mezcladora de cuba horizontal.

I.8.2.4.- Moldeado del producto.

El proceso de moldeado de las mezclas formuladas consiste en el prensado de la masa cárnica en el interior de un molde de acero inoxidable (Figura I.12). El tiempo y la temperatura requerida varían según el tipo de producto que se pretende elaborar (Figura I.9).

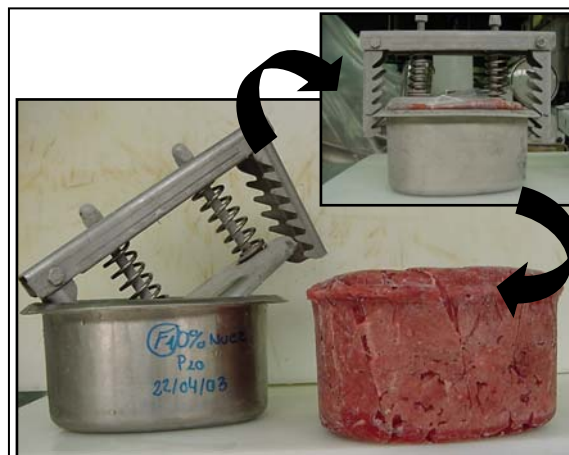


Figura I.12. Proceso de moldeado en molde de acero inoxidable.

I.8.2.5.- Tipos de cárnicos reestructurados según la presentación final.

El producto moldeado puede ser sometido a un proceso de congelación, refrigeración o cocción, según el reestructurado final que se pretende desarrollar, obteniéndose de este modo derivados cárnicos de distintas características (Figura I.9): congelado, precocinado o cocinado y refrigerado.

- **Reestructurado congelado.**

Estos productos tras el moldeado son congelados y conservados a baja temperatura (-20 °C), hasta el momento en que son sometidos a un proceso de cocinado (gelificación por calor) y consumidos.

El proceso de congelación puede realizarse sobre los filetes o porciones individuales, o bien sobre los moldes o bloques de carne (Figura I.9). En el caso de los bloques una vez finalizada la congelación, pueden comercializarse como tales o pueden ser cortados en porciones individuales, regulares en tamaño y peso. Para ello suele recurrirse a sierras de alta velocidad (Figura I.13). Finalmente, se acondicionan y se envasan habitualmente con materiales opacos (Cambero *et al.*, 1991).



Figura I.13. Sierra de alta velocidad.

- **Reestructurado precocinado o cocinado.**

Este tipo de producto sufre un tratamiento térmico (gelificación por calor) después del moldeado (Figura I.9), que permite obtener auténticos productos terminados, listos para su consumo (cocinado) o productos intermedios que han de someterse a un ligero proceso culinario antes de su consumo (precocinado).

- **Reestructurado refrigerado.**

En este tipo de productos crudos la cohesión inicial no está basada en la consistencia que proporciona la congelación, suelen ser más frágiles y lábiles, y por tanto más difíciles de manejar. Para mejorar este aspecto se emplea diversos gelificantes

en frío: **alginatos** aplicados por primera vez en la patente desarrollada por Schmidt y Means (1986), o bien **fibrinógeno** y **trombina** (Wijngaards & Paardekooper, 1987), o preparados de MTG (Nonaka *et al.*, 1989; Kuraishi *et al.*, 1997). La MTG puede ser incorporada en polvo, vehiculizada con caseinato, o bien disuelta en agua. El grado de ligazón desarrollado por la MTG depende de su concentración, temperatura y tiempo de actuación (Sheard, 2002).

Este tipo de productos necesitan un envasado para su comercialización más elaborado que en los productos congelados, el cual utiliza atmósferas modificadas o envasado al vacío para prolongar la conservación (Cambero *et al.*, 1991; Cambero, 2002).

La presentación y características de los productos desarrollados pueden variar según la estrategia empresarial, existiendo una amplia posibilidad de modificar tanto cualitativa como cuantitativamente su composición.

I.8.3.- Factores que afectan a la calidad de los reestructurados cárnicos durante el proceso de elaboración.

En la elaboración de los reestructurados cárnicos debe prestarse atención a ciertos factores que pueden afectar al correcto procesado y por tanto comprometer las características finales del producto. Entre ellos cabe destacar dos grupos, por un lado los factores asociados a la composición del producto y por otro los meramente tecnológicos.

I.8.3.1.- Factores asociados a la composición de los productos reestructurados.

Los ingredientes utilizados en la composición de los reestructurados cárnicos van a ser importantes por cuanto pueden afectar en mayor o menor medida a su calidad final.

La **carne** empleada para la reestructuración puede proceder de todas las especies de abasto, además por razones económicas se ha probado la incorporación de determinadas vísceras, además de carnes pre-rigor, dada su mayor capacidad de

retención de agua y poder de ligazón (Seideman *et al.*, 1982; Condray & Huffman, 1984).

La **grasa** es el componente de las carnes reestructuradas que muestra más variaciones cuantitativas, oscilando entre 3,5 % hasta más del 20 % (Mandigo & Booren, 1981).

La **sal** (NaCl) y **fosfatos** son adicionados para aumentar la fuerza iónica del medio y favorecer la solubilidad de las proteínas miofibrilares (apartado I.5.2), base de los fenómenos de ligazón por calor (Lamkey *et al.*, 1986; Huffman *et al.*, 1987), entre otras funciones (apartado I.8.3.2.4).

Las sustancias **ligantes** y **gelificantes** como alginatos, carragenatos, almidones modificados, harinas de avena y diversas proteínas de origen animal no cárnicas (sólidos lácteos totales, caseinato sódico, proteínas del plasma sanguíneo, albúmina de huevo, gelatina, etc.) y vegetal (las proteínas aisladas de soja, gluten de trigo, etc.), son utilizados por razones tecnológicas (gelificación, textura, etc.) y económicas del producto (Hand *et al.*, 1981; Miller *et al.*, 1986) (apartado I.5.2). En la actualidad se está comenzando a emplear MTG que cataliza la reacción de unión covalente entre cadenas peptídicas con residuos glutamina y lisina, permitiendo reducir la necesidad de añadir sal o fosfatos (Nielsen *et al.*, 1996; Kuraishi *et al.*, 1997). Se han realizado diversos estudios sobre la aplicación de MTG en productos cárnicos, desarrollando su actividad a bajas temperaturas (< 10 °C) y periodos de tiempo generalmente inferiores a 24 h, antes de ser inactiva por congelación (Kuraishi *et al.*, 1997) o inactivada por calentamiento (Pietrasik, 2003). Por razones prácticas el efecto de la MTG en reestructurados cárnicos debe ser estudiado a más largo plazo, durante periodos acordes con las condiciones habituales de comercialización de estos productos en refrigeración. Sin embargo, apenas existen estudios que evalúen como dicha conservación afecta a las características del producto.

El **agua** es añadida en cantidades variables, con el fin de ajustar la composición del producto (reduciendo el contenido en grasa, etc.) o compensar las pérdidas de peso durante la elaboración (Trout & Schmidt, 1987). También tiene un papel destacado

como disolvente de diversos componentes, al tiempo que confiere al producto jugosidad adecuada.

Además de los componentes empleados con propiedades meramente tecnológicas pueden ser incluidos en la formulación de los reestructurados, **otros ingredientes no cárnicos** con actividades adicionales de carácter funcional como se ha descrito en el apartado I.6.2.2.

I.8.3.2.- Factores tecnológicos.

Aunque los factores tecnológicos han sido citados en el apartado de elaboración de los reestructurados dentro del proceso al que afecta cada uno de ellos, a continuación serán analizados más detalladamente e incidiendo en sus efectos sobre el producto final.

I.8.3.2.1.- Tamaño de la partícula cárnica.

Existen diferentes métodos de reducción del tamaño de la materia prima cárnica (apartado I.8.2.2), sin embargo, el picado es el método más utilizado posiblemente por su sencillez (Boles & Shand, 1998).

El tipo de partícula de carne (tamaño y forma) puede afectar a las características finales del producto (textura, color, propiedades ligantes, sensoriales, etc.) (Berry *et al.*, 1987; Hunt & Kropf, 1987; Mandingo, 1988; Boles & Shand, 1998; Berry *et al.*, 1999) y a la incorporación de ingredientes no cárnicos (Nielsen *et al.*, 1996; Boles & Shand, 1998). Esto es debido a que diferencias en el área superficial de las partículas cárnicas producen cambios en la extracción de proteínas e incrementa la exposición y el contacto de los constituyentes de la carne con los ingredientes no cárnicos incorporados, los cuales pueden influir también en las características finales del producto (Mandingo, 1988). En general, cuanto menor sea el tamaño de las partículas cárnicas (mayor grado de fraccionamiento), mayor será la superficie expuesta y accesibilidad de las proteínas miofibrilares, lo que proporcionará productos mejor ligados y más tiernos (Campbell & Mandingo, 1978). Sin embargo, el grado de fraccionamiento debe ser limitado, de lo contrario el producto final se alejará del aspecto propio deseado para este tipo de productos.

I.8.3.2.2.- Temperatura del proceso.

La temperatura de la carne durante el proceso de elaboración de los reestructurados (picado de la carne y mezcla de los ingredientes, principalmente) es uno de los parámetros más importantes a tener en cuenta (Sheard, 2002). El proceso de fraccionamiento se debe llevar a cabo a temperaturas entre 5,6 y -4,4 °C (entre 0 y -2 °C para la grasa) (Mandingo, 1974), mientras que la extracción de las proteínas de la carne durante la mezcla de los ingredientes, conviene transcurra a temperaturas inferiores a 5 °C (Bard, 1965; Booren *et al.*, 1981a). La temperatura aumenta durante el proceso de mezclado a medida que la carne se descongela (Sheard, 2002), siendo más rápida la descongelación con la incorporación de sal (de 0,5 a 1 °C) (Sheard *et al.*, 1990).

I.8.3.2.3.- Tiempo de mezclado.

El tiempo de mezcla de los ingredientes es un factor limitante que va a influir en la calidad del producto final. El trabajo mecánico de mezclado no debe degradar demasiado la estructura de la carne. La reducción inicial del tamaño de la carne da lugar a cierta destrucción de la pared celular y liberación de agua, con la agitación adicional (mezclado) se intensifica la extractabilidad proteica, que van a favorecer la ligazón. La agitación prolongada degrada aun más la estructura muscular y aumenta la posibilidad de retención de agua. En general cortos periodos de mezcla dan como resultado texturas blandas y friables, mientras que mezclas excesivas dan como resultado texturas muy elásticas (Weiner, 1987).

Los tiempos óptimos de mezcla se determinan experimentalmente, ya que van a variar con el tipo de mezcladora, la velocidad empleada y la textura final deseada (Pepper & Schmidt, 1975; Booren *et al.*, 1981a; 1981b; Durlan *et al.*, 1982; Coon *et al.*, 1983; Noble *et al.*, 1985).

I.8.3.2.4.- Factores implicados en la solubilidad de las proteínas.

La elaboración de carnes reestructuradas, al igual que la de otros productos tales como embutidos, depende de la formación de una matriz proteica en el seno del producto. A partir de proteínas miofibrilares y entre las porciones cárnicas, surge una matriz o cemento de unión que facilita la retención de agua, la estabilidad de la grasa y

del resto de los componentes del sistema. Para conseguir una adecuada extracción de las proteínas miofibrilares se recurre a métodos físicos y químicos.

I.8.3.2.4.1.-Métodos físicos.

La extracción de proteínas se puede favorecer en las fases de preparación y fraccionamiento de la carne (apartados I.8.2.1 y I.8.2.2, respectivamente) y con la mezcla con otros ingredientes (apartado I.8.2.3). Los **métodos mecánicos** permiten la ruptura de la fibra muscular, con el consiguiente incremento de la superficie expuesta a cualquier interacción y permite una mayor liberación de proteínas miofibrilares, permitiendo la obtención de productos de mejor textura (Hayward *et al.*, 1980; Flores *et al.*, 1986; Booren & Mandingo, 1987).

I.8.3.2.4.2.-Métodos químicos.

El incremento en la solubilidad de las proteínas miofibrilares se consigue aumentando la fuerza iónica del medio y el pH. La fuerza iónica depende fundamentalmente de la presencia de sales (NaCl y polifosfatos, principalmente), que en las concentraciones empleadas en la elaboración de este tipo de productos (de 0,5 a 1,5%), permite la extracción de las proteínas miofibrilares, generando en el medio las condiciones propicias para el establecimiento de una adecuada matriz proteica (Schwartz & Mandingo, 1976; Mandingo, 1988). Los polifosfatos ejercen un efecto sinérgico al NaCl, provocando por lo general un aumento de la capacidad de retención de agua, del pH y de la fuerza iónica del medio (Millar *et al.*, 1986).

I.8.4.- Análisis de la calidad de los reestructurados cárnicos.

Para evaluar las características del producto desarrollado y garantizar su seguridad tras el proceso de elaboración, se debe realizar el control de su calidad. El concepto de calidad es un término difícil de concretar. Según una de las definiciones más extendidas, la calidad se describe como “aquello que gusta al consumidor y por lo que está dispuesto a pagar más” (Hammond, 1955), sin embargo, esto implica tantas definiciones como tipos de consumidores existen. Para una definición algo más sólida del complejo concepto de calidad de la carne es preciso diferenciar distintos factores que determinen la aceptabilidad del producto para el consumidor y en consecuencia la

calidad. Estos son los factores: tecnológicos, sensoriales, higiénicos y nutritivos (Girard, 1984; Hofmann, 1990) (Figura I.15). En los últimos años se está dando importancia a los factores saludables, cuando se trata de alimentos funcionales. Los distintos parámetros que determinan la calidad de la carne se incluye en alguno o varios de estos factores, que a su vez están interrelacionados. Los diferentes parámetros de calidad deben ser medidos y caracterizados mediante diversas técnicas (Tabla I.19).

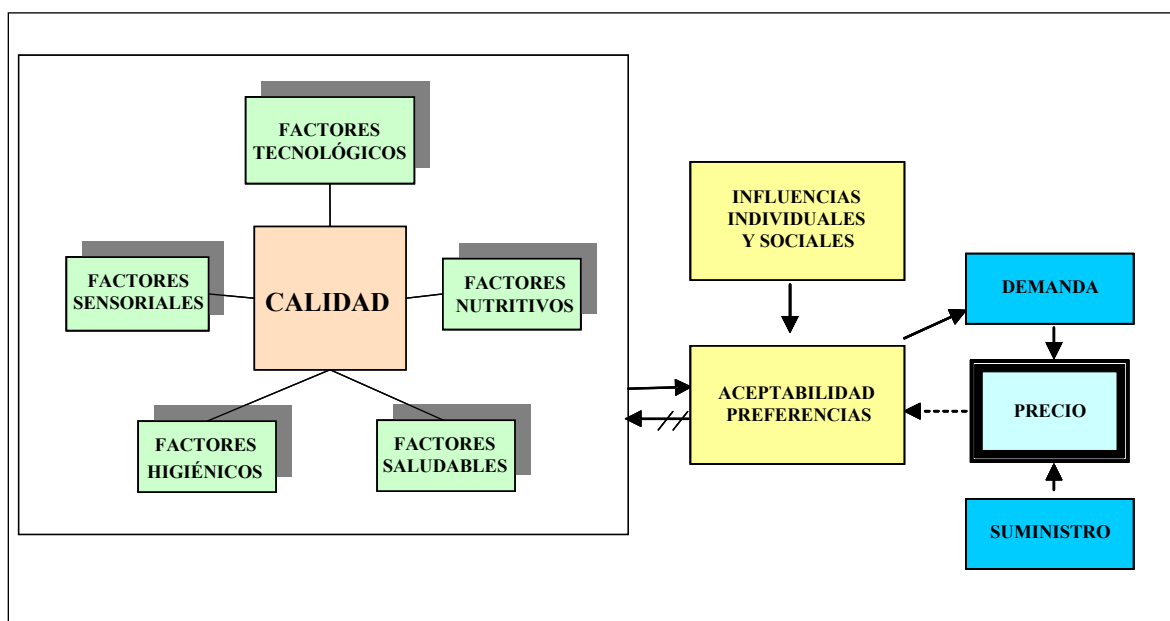


Figura I.15. Relación entre la calidad de los productos determinada por los factores de calidad objetivos, apreciación subjetiva o preferencia y el precio del producto (Adaptado de Hofmann, 1990).

Tabla I.19. Factores que determinan la calidad de la carne y los productos cárnicos, parámetros y técnicas empleadas para su evaluación.

FACTORES	PARÁMETROS EVALUADOS	TÉCNICAS
Tecnológicos	Propiedades ligantes de agua y grasa, cambio dimensional, color, textura, microestructura, etc.	Cálculo por diferencia, Análisis de imagen, Densitometría, Colorimetría, Texturometría, Microscopía electrónica de barrido, etc.
Sensoriales	Color, forma, tamaño, textura, flavor, etc.	Panel de catadores
Nutricionales	Proteína, grasa, minerales, vitaminas, aminoácidos, etc.	Tabla I.20
Higiénicos	Microorganismos, contaminantes, residuos, etc.	Técnicas microbiológicas, HPLC, Técnicas colorimétricas, etc.
Saludables	Efecto fisiológico sobre el organismo tras su consumo (reducción del colesterol, evitar obesidad, etc.)	Estudios experimentales y/o epidemiológicos. Estudios de intervención con biomarcadores.

I.8.4.1.- Análisis de los factores tecnológicos.

El análisis de estos factores se realiza mediante métodos objetivos y pretende evaluar la respuesta del producto frente a diferentes condiciones de procesado (Tabla I.19).

I.8.4.1.1.- Propiedades ligantes de agua y grasa.

Estas propiedades proporcionan información acerca de la aptitud tecnológica de las proteínas miofibrilares para retener el agua y la grasa en el producto formado. Su determinación se puede llevar a cabo en sistemas modelo, tras la aplicación de un determinado tratamiento térmico, o ser valoradas por efecto de la descongelación, conservación o cocción en el producto final.

I.8.4.1.2.- Cambio dimensional debido al tratamiento térmico.

El cambio dimensional que experimentan los productos cárnicos, especialmente las hamburguesas y los reestructurados, tras el tratamiento térmico, es un fenómeno muy común y que de ser inadecuado causa una mala imagen del producto. El principal cambio observado es la **deformación** que suele producirse en una dirección predominante (Mounsdon & Jolley, 1987). Asimismo, también puede producirse, aunque es menos frecuente, el **incremento en la altura** del producto y el desarrollo de **orificios** en el interior del mismo (Sheard, 2002). Por tanto, la determinación de estos parámetros da idea de las distorsiones en el tamaño producidas en la muestra tras el tratamiento térmico. Las técnicas empleadas son: densitometría, análisis de imagen, etc. (Tabla I.19).

I.8.4.1.3.- Medida objetiva del color.

La aceptación de un producto alimentario por el consumidor depende en gran medida de su aspecto externo en el que su color ocupa un papel relevante. El color de los productos cárnicos aporta una información importante, ya que pueden dar idea de la calidad de las materias primas y de la idoneidad de los procesos de elaboración, almacenamiento y conservación. La decoloración es el mayor problema para la comercialización de productos reestructurados, porque disminuye su aceptabilidad

(Chen & Trout, 1991). La determinación objetiva del color se lleva a cabo mediante métodos colorimétricos (Figura I.16).



Figura I.16. Colorímetro.

I.8.4.1.4.- Determinación instrumental de la textura.

En los productos cárnicos la textura es uno de los criterios que más condiciona su aceptación. Dureza, jugosidad, fibrosidad, cremosidad, untosidad, masticabilidad, etc., son algunos de los conceptos utilizados para definir el comportamiento de un producto cárnico cuando se consume y estimula los receptores del tacto de la lengua y del paladar.

La unión entre las partículas que forman el reestructurado condiciona los parámetros de textura, siendo por tanto uno de los factores más importante en este tipo de productos (Field *et al.*, 1984). Para su análisis objetivo se emplean diferentes procedimientos entre ellos el ensayo de Kramer y medida de la fuerza de ligazón de los reestructurados (Figura I.17):

Ensayo de Kramer: esta técnica permite determinar la fuerza máxima de corte, definida como la carga máxima por unidad de peso de muestra (N/g).

Medida de la fuerza de ligazón de las partículas que forman el reestructurado: esta técnica permite determinar la **fuerza de ligazón** (N) entre las partículas que forman el producto reestructurado y la **elongación o deformación que sufre hasta su ruptura** (mm). La fuerza de ligazón o unión se define como la fuerza aplicada por unidad de área de sección, para separar (directa o indirectamente) las piezas ligadas del producto cárnico (Schmidt & Trout, 1982).

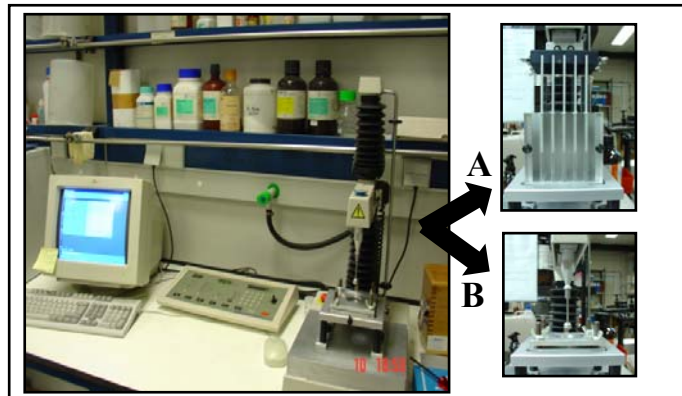


Figura I.17. Texturómetro y sondas empleadas en diferentes ensayos (Célula de Kramer, **A** y sonda para determinar la fuerza de ligazón, **B**).

Otros parámetros de textura como la elasticidad, masticación, etc. pueden ser determinados mediante técnicas de relajación-compresión, menos convenientes en este tipo de productos por la dificultad de obtener productos de geometría uniforme.

I.8.4.1.5.- Microestructura.

La microestructura o ultraestructura de un alimento ayuda a entender sus características sensoriales y mecánicas. Proporcionando información acerca de la organización compleja de componentes sometidos a la influencia de fuerzas físicas internas y externas, visible únicamente a través de instrumentos específicos (Stanley & Tung, 1976).

I.8.4.2.- Análisis de los factores sensoriales.

Con independencia de la información aportada por las evaluaciones de los parámetros físico-químicos, el grado de aceptación o rechazo por el consumidor va a estar condicionado por la valoración sensorial del producto. Esta se basa en el empleo de métodos subjetivos de medida de los parámetros sensoriales, utilizando los órganos

de los sentidos de personas (panel de catadores) que expresan su opinión sobre ellos y que son traducidos a valores numéricos. Existen distintos tipos de pruebas sensoriales en función del tipo de evaluación que se desee realizar. Estas pruebas se pueden clasificar en cuatro categorías: pruebas discriminativas, pruebas de clasificación, pruebas descriptivas y pruebas hedónicas o de consumo (García & Carraspiso, 2002).

I.8.4.3.- Análisis de los factores higiénicos.

Su interés se sitúa a tres niveles fundamentales: contaminación microbiana, residuos químicos y residuos físicos.

Las carnes reestructuradas son productos cuya elaboración requiere una gran manipulación, por ello la posibilidad de contaminación es elevada. Además como la carne se somete a un troceado más o menos fino, la contaminación microbiana no es sólo superficial. En consecuencia durante su elaboración han de guardarse las máximas medidas de higiene para conseguir el menor grado de contaminación inicial, ya que estas junto al almacenamiento, van a determinar la vida útil del producto final, en especial en productos frescos-refrigerados.

Por otro lado, se realiza la determinación de compuestos químicos que pueden estar en el producto, bien procedentes de la contaminación ambiental (pesticidas, antimicrobianos, desinfectantes, detergentes, etc.) o por su desarrollo durante la elaboración y/o periodo de conservación (aminas biógenas, oxidación de lípidos, etc. apartado I.5.3). Además de la determinación de los residuos físicos, restos óseos, plásticos, vidrio, etc. (García & Carraspiso, 2002).

I.8.4.4.- Análisis de los factores nutritivos.

El valor nutritivo (perfil nutricional) de un alimento se establece basándose en la energía que proporciona, en su contenido en nutrientes (esenciales o no) y en la facilidad para digerir y absorber esos nutrientes. Este valor nutritivo está íntimamente ligado a la composición química principal del alimento (proteína, grasa, humedad y cenizas) y esta a su vez a la composición de todos y cada uno de los ingredientes utilizados (apartado I.8.3.1). De manera general se puede establecer la calidad nutritiva

al hablar de aporte de proteínas y aminoácidos esenciales, grasas y ácidos grasos esenciales, vitaminas y minerales (García & Carraspiro, 2002) (Tabla I.20).

Tabla I.20. Principales parámetros que determinan la calidad nutricional y técnicas empleadas en su determinación.

PARÁMETROS	TÉCNICAS
Aporte calórico	Cálculo estimado a partir de la composición química, calorimetría.
Proteínas	Análisis por combustión, método Kjeldahl, espectrofotometría en rango de infrarrojo.
Aminoácidos	Cromatografía de intercambio iónico.
Grasas	Métodos gravimétricos (Soxhlet, Bligh & Dyer, etc.).
Ácidos grasos específicos y colesterol	Cromatografía de gases, Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
Vitaminas	HPLC
Minerales	Espectrofotometría de absorción o emisión atómica.

I.8.4.5.- Análisis de los factores saludables.

Los efectos beneficiosos para la salud que puede poseer los alimentos funcionales respecto a su valor añadido (alegaciones de propiedades saludables), son básicamente de dos tipos en relación con mejoras en funciones fisiológicas (gastrointestinal, sistema inmune, etc.) y con la reducción del riesgo de enfermedad (ECV, obesidad, diabetes, cáncer, osteoporosis, etc.) (Agget *et al.*, 2005). La base científica en que se apoyan dichas alegaciones de sus características saludables, pueden derivar de los siguientes tipos de estudios (Agget *et al.*, 2005):

- a) Estudios experimentales y/o estudios epidemiológicos.
- b) Estudios de intervención con el empleo de biomarcadores.

I.9.- REESTRUCTURADOS CÁRNICOS CON NUEZ.

Los frutos secos por lo general son un alimento consumido con cierta frecuencia en la dieta mediterránea (León & Castillo, 2002), siendo España uno de los mayores consumidores de nueces. Sin embargo, no todos los sectores de la población las ha incorporado en su dieta diaria, además su consumo suele concentrarse en determinadas épocas del año.

Diversas evidencias científicas recomiendan que se introduzcan frutos secos (nueces) en la alimentación diaria (SENC, 2001; FDA, 2003), ya que constituyen una fuente de compuestos bioactivos de enorme relevancia en la salud, al proteger frente a las ECV, disminuyendo la mortalidad e incrementando la esperanza de vida. En tal sentido, la SENC (2001), “recomienda ingerir entre 1 y 5 raciones por semana (una ración son 25 g), para adultos sanos sin obesidad ni sobrepeso”. Por otro lado, la FDA (2003) ha aprobado recientemente la siguiente alegación para el etiquetado de las nueces: “Investigaciones no concluyentes avalan que el consumo de 42,5 g de nueces al día como parte de una dieta baja en ácidos grasos saturados y colesterol, no supone un incremento en la ingesta de calorías y pueden reducir el riesgo de enfermedades coronarias”.

Sin embargo, por diferentes razones una gran parte de la población no es capaz de consumir nueces como tal, de forma sistemática y continua durante un largo periodo de tiempo (Diehl, 2002), por lo que su consumo se encuentra por debajo de lo recomendado. La ingesta media de frutos secos en España está en torno a 7 g diarios (MAPA, 2003).

La incorporación de nueces en alimentos de consumo frecuente, como son los derivados cárnicos, aseguraría su ingestión en cantidades convenientes. Esto es de especial interés para sectores de la población en los que el consumo de nueces no es una pauta habitual. La diversificación de las fuentes de ingesta de estos alimentos se revela como un elemento esencial para garantizar la presencia de los compuestos bioactivos aportados por las nueces en la dieta.

Por otro lado, los derivados cárnicos reestructurados, como se ha comentado anteriormente (apartado I.8.1), son productos capaces de reunir todas las expectativas y

necesidades del consumidor: aspecto natural, seguros, de calidad constante, preparación sencilla y rápida, asimismo, posibilitan cambios de composición que inciden en su valor nutritivo y en sus potenciales propiedades saludables. Al mismo tiempo que facilitan a la industria la automatización de su elaboración, el empleo y revalorización de ciertas materias primas y amplía la gama de productos ofertados. De especial interés son aquellos que se enmarcan dentro de las tendencias actuales, como es el caso de los alimentos funcionales.

II.- OBJETIVOS Y DISEÑO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL.

II.- OBJETIVOS Y DISEÑO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL.

II.1.- PREMISAS.

- ✓ El mayor conocimiento acerca de la relación dieta-salud y el enorme impacto que provoca sobre la opinión pública, constituye uno de los elementos que más está condicionando el interés de los consumidores por determinados tipos de alimentos y hábitos de consumo. Esta situación, unida al concepto “nutrición óptima”, que conlleva una serie de recomendaciones dietéticas para reducir el consumo de determinados alimentos o sus componentes, así como el desarrollo de nuevos alimentos modificando su composición original, está favoreciendo el avance de los llamados alimentos funcionales.
- ✓ La carne y sus derivados ocupan un papel destacado en la dieta, debido entre otros factores a su valor nutricional y consumo frecuente, lo que les hacen ser elementos esenciales para vehicular la ingesta de determinados compuestos bioactivos. Esta posibilidad permite crear importantes expectativas en el sector cárnico por cuanto constituye una excelente oportunidad de diferenciación, diversificación y posicionamiento en un mercado emergente.
- ✓ La industria cárnica dispone de distintas estrategias para modificar la composición cuali y cuantitativa de sus productos y así elaborar alimentos de diseño con propiedades específicas, en relación con la presencia de determinados compuestos (endógenos y/o exógenos) con potenciales implicaciones en la mejora de la salud y el bienestar, y/o en la reducción del riesgo de enfermedad.
- ✓ Diversos estudios epidemiológicos relacionan el consumo de nueces con una menor incidencia del riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares. Estos efectos beneficiosos, atribuidos a la presencia de distintos componentes bioactivos, han motivado que diferentes entidades, hayan establecido recomendaciones acerca de los niveles de consumo de nuez. Así por ejemplo la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA, 2004) ha señalado recientemente que “investigaciones no concluyentes avalan que el

consumo de 42,5 g de nueces al día, como parte de una dieta baja en ácidos grasos saturados y colesterol sin incrementar la ingesta de calorías, puede reducir el riesgo de enfermedades coronarias”.

- ✓ A pesar de tan notables ventajas, en general el consumo de nuez está por debajo de lo recomendado, ya que muy pocas personas son capaces de consumirlas en cantidades suficientes, de forma sistemática y durante largos periodos de tiempo. Una manera de favorecer su ingesta sería incorporarla como ingrediente en alimentos de consumo frecuente, caso de los derivados cárnicos, a los que se puede dotar de la presencia de diversos compuestos bioactivos, confiriéndoles un potencial carácter cardiosaludable.

- ✓ Dentro de los productos cárnicos, los reestructurados ofrecen una excelente oportunidad para desarrollar una gama de alimentos capaces de reunir todas las expectativas y necesidades del consumidor, y además con importantes ventajas a nivel de producción. En este contexto, resulta interesante abordar el diseño y desarrollo de reestructurados reformulados para contener diversos compuestos bioactivos cardiosaludables, incorporados mediante la adición de nuez.

II.2.- HIPOTESIS.

El diseño y desarrollo de reestructurados cárnicos formulados con nuez, permitiría dotar al producto de la presencia de diversos componentes asociados con la disminución del riesgo cardiovascular, que pueden conferirle características de alimento funcional.¹

Supone un reto tecnológico teniendo en cuenta que se propone elaborar un derivado que ha de responder a criterios de calidad análogos a los de cualquier otro producto cárnico de características similares. En tal sentido, hay que tomar en consideración factores sensoriales, nutricionales, tecnológicos, higiénicos, etc.

¹ Los estudios de intervención en humanos para demostrar el efecto funcional del producto se han realizado en el Hospital Universitario Puerta de Hierro y la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. Todo ello en el marco de un proyecto coordinado y financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología, AGL2001-2398-C03-01, del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I).

II.3.- OBJETIVOS.

El objetivo de este trabajo ha consistido en el diseño y desarrollo de filetes reestructurados de vacuno con la incorporación de nuez, modificados cuali y cuantitativamente en componentes bioactivos asociados con el riesgo cardiovascular.

El desarrollo de tales productos, encaminado a dotarlos de adecuados atributos de calidad, se ha abordado a través de los siguientes objetivos específicos:

1. Estudio de la influencia de diferentes factores de composición y tecnológicos en el desarrollo de filetes reestructurados con nuez: porcentaje de nuez, grado de desintegración estructural de la materia prima cárnica y sistema de gelificación.
2. Análisis de las modificaciones del perfil nutricional de los filetes reestructurados por efecto de la incorporación de nuez.
3. Evaluación de la estabilidad de los productos durante la conservación en las condiciones habituales de comercialización: refrigeración y congelación.

El grado de consecución de los citados objetivos se ha valorado mediante la determinación de diversos parámetros de calidad de los filetes reestructurados. Entre ellos se encuentran: composición, textura, propiedades ligantes, color, microbiología, formación de aminas biógenas, cambios dimensionales, análisis sensorial, oxidación lipídica y microestructura.

II.4.- DISEÑO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL.

Para acometer los objetivos específicos planteados previamente, se realizaron una serie de trabajos experimentales que se han agrupado en tres secciones ¹ (Figura II.1).

Los capítulos de que consta la **SECCIÓN I** se plantearon para abordar el primer objetivo, tomando en consideración factores de composición y tecnológicos que presentan una influencia determinante en las características de los productos formulados:

Capítulo I.1. Recoge una serie de experimentos encaminados a evaluar el efecto que ejercen distintos niveles de nuez (0, 5, 10 y 15 %), sobre las propiedades físico-químicas, microestructura y atributos sensoriales, de filetes reestructurados crudo-congelados.

Capítulo I.2. Agrupa varios estudios en los que se evalúa la influencia del grado de desintegración estructural de la carne (0,6 y 1,4 cm) y el porcentaje de nuez incorporado al producto (0, 5, 10 y 15 %), sobre las características físico-químicas, microestructura y propiedades sensoriales de un producto reestructurado precocinado.

Capítulo I.3. Describe estudios en los que se analiza la influencia de un proceso de gelificación en frío, empleando la combinación de transglutaminasa microbiana/caseinato (MTG/C), sobre las características físico-químicas y sensoriales de reestructurados preparados con diferentes niveles de nuez (0, 10 y 20 %), sin sal y 10 % de nuez con sal.

¹ Algunos de los objetivos han sido abordados en el contexto de un amplio desarrollo experimental que ha dado lugar a diferentes artículos. Sin embargo, en beneficio de la claridad de exposición se ha recurrido a separarlos en diferentes capítulos, que en algunos casos puede no coincidir con la integridad del artículo publicado.

Los estudios realizados para abordar el segundo objetivo específico se recoge en la **SECCIÓN II**.

Capítulo II.1. En el mismo se analiza como la presencia de un 20 % de nuez condiciona el perfil nutricional de los filetes reestructurados. Con tal propósito se ha determinado la composición en aminoácidos, ácidos grasos, minerales y vitamina E, entre otros.

La determinación de la estabilidad de los filetes (tercer objetivo específico) se describe en la **SECCIÓN III**, a través de dos experimentos:

Capítulo III.1. Debido a que los procesos de gelificación en frío permiten la comercialización de productos frescos refrigerados, se han estudiado los cambios experimentados en las características de los filetes reestructurados elaborados mediante un proceso de gelificación en frío (MTG/C), con distintas proporciones de nuez (0, 10, y 20 %) y sin sal, a lo largo de su conservación a 3 °C durante 6 días. Tales cambios se han centrado, por un lado en el desarrollo microbiano y formación de aminas biógenas y por otro en la evaluación de las propiedades físico-químicas del producto (esta parte del estudio se incluye en el **capítulo I.3**).

Capítulo III.2. En este apartado se recoge un estudio planteado con el fin de evaluar cómo la conservación en congelación (-20 °C) durante 128 días, condiciona las características físico-químicas y sensoriales, de filetes reestructurados formulados con diferentes concentraciones de nuez (0, 10 y 20 %).

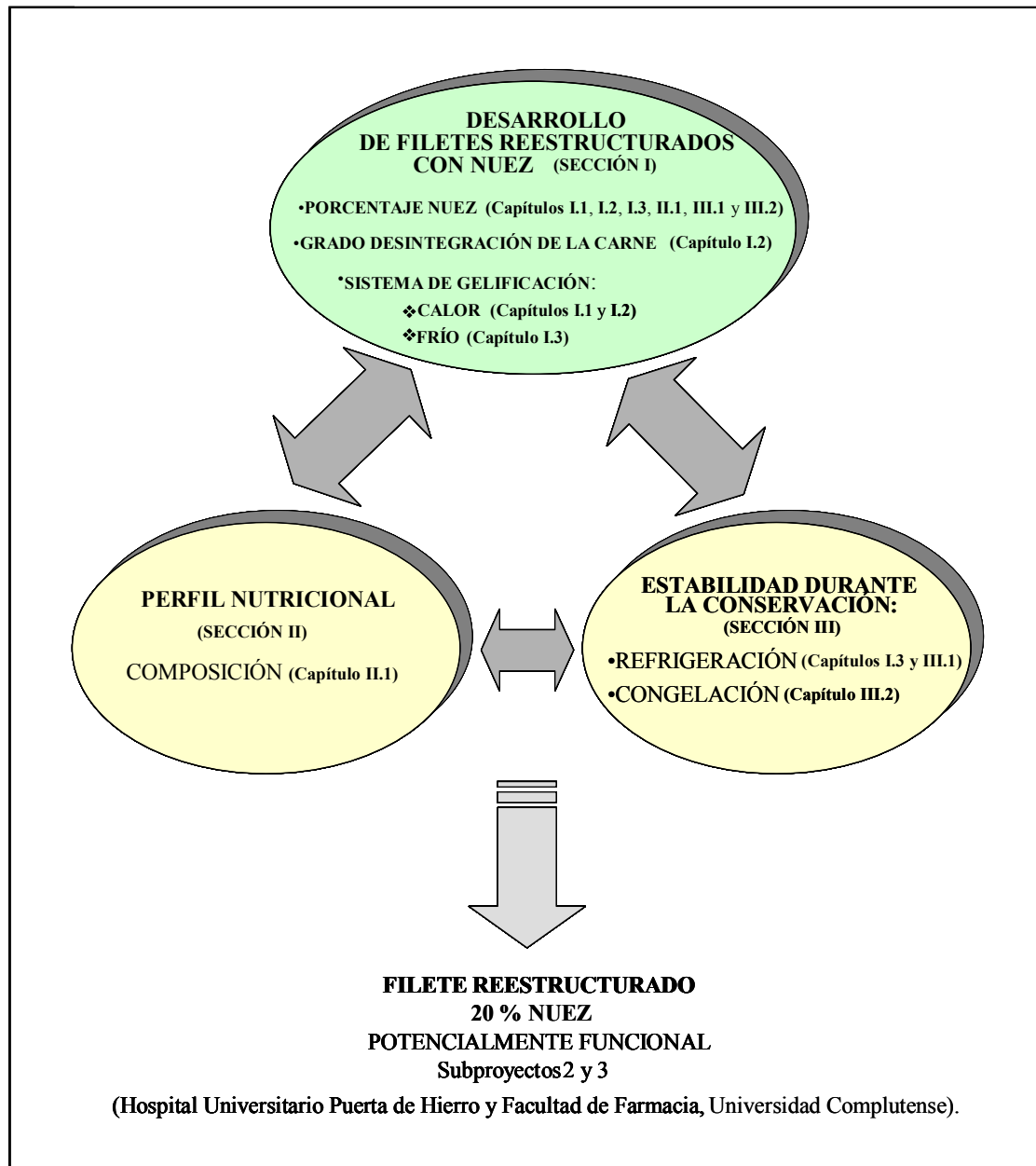


Figura II.1. Diseño del trabajo experimental.

III.- TRABAJO EXPERIMENTAL.

SECCIÓN I

**DESARROLLO DE FILETES REESTRUCTURADOS CON NUEZ:
INFLUENCIA DE FACTORES DE COMPOSICIÓN Y
TECNOLÓGICOS.**

RESUMEN DE LOS CAPÍTULOS.

La **SECCIÓN I** recoge tres trabajos experimentales realizados con el fin de avanzar en la tecnología de elaboración de filetes cárnicos reestructurados de vacuno con nuez incorporada, abordando de este modo el primer objetivo planteado. Para ello se llevó a cabo el desarrollo de tres tipos de productos, en representación de las tres formas de comercialización de estos elaborados cárnicos: congelado, precocinado y refrigerado (por un proceso de gelificación en frío con MTG/C), analizando su comportamiento en función de factores de composición y tecnológicos.

Capítulo I.1. Características físico-químicas y sensoriales de filetes reestructurados de vacuno con nuez incorporada. *“Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts”*. *Meat Science*, 65 (2003): 1391-1397.

En este experimento se estudió el efecto de la incorporación de diferentes concentraciones de nuez ¹ (0, 5, 10 y 15 %), en filetes reestructurados de vacuno crudo-congelados (Figura III.1). En tal sentido se evaluó su composición, características físico-químicas [pH, propiedades ligantes (fluido total, grasa y agua liberado), pérdidas de peso por descongelación y cocción, cambios dimensionales, textura, color y microestructura] y propiedades sensoriales (Figura III.1).

Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que la incorporación de nuez (10 y 15 %), disminuyó las pérdidas por cocción ($P < 0,05$), incrementando las propiedades ligantes de agua ($P < 0,05$) y disminuyendo las de grasa ($P < 0,05$). La textura de los filetes en estado crudo, no se vio modificada con la incorporación de nuez ($P > 0,05$), sin embargo, sobre el producto tratado térmicamente y con niveles de nuez ≥ 10 %, provocó una disminución ($P < 0,05$) en la fuerza máxima de corte (KSF) y de ligazón (BS). El análisis de las características morfológicas del producto puso de

¹ A pesar de que el efecto de la incorporación de nuez es un factor analizado en este capítulo, también se ha estudiado en otros experimentos. Por ello, a pesar de que a efectos de exposición del trabajo experimental se incluye dentro del capítulo I.1, en la discusión integradora se evaluará de manera conjunta con los estudios derivados de los otros experimentos.

manifiesto que la nuez interfiere en la formación de la estructura de la red proteica. Asimismo, se ha observado que los filetes reestructurados con nuez, presentaron aceptables características sensoriales según la valoración realizada por el panel de catadores.

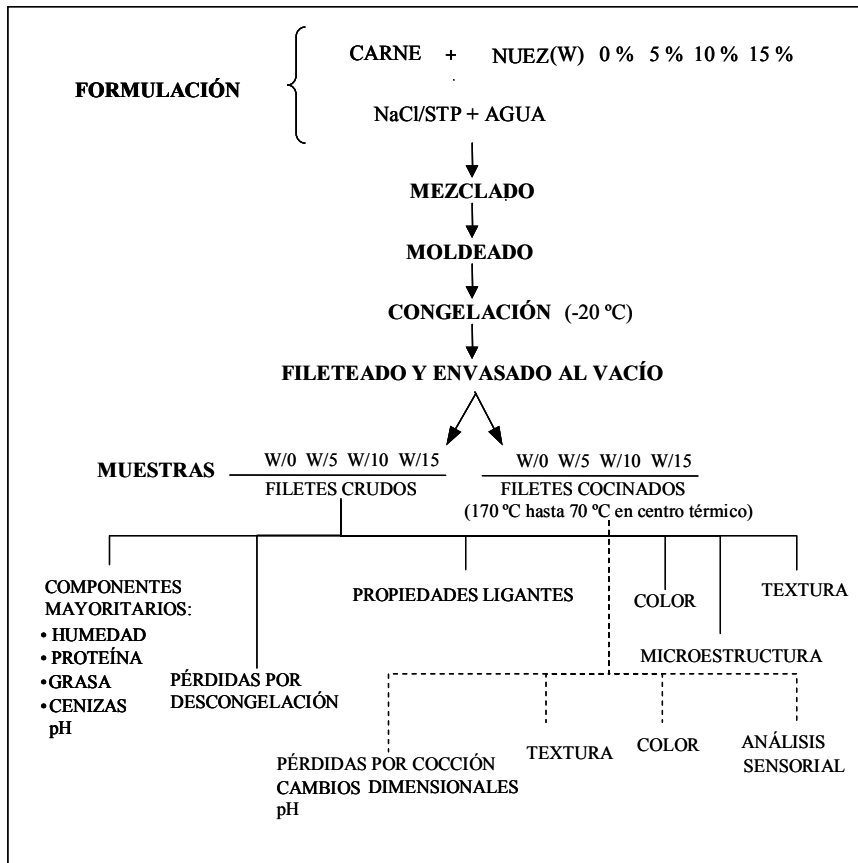


Figura III.1. Diseño del experimento y parámetros evaluados para el estudio del efecto de la incorporación de diferentes concentraciones de nuez.

Capítulo I.2. Influencia de diferentes tamaños de partícula cárnica en reestructurados de vacuno elaborados con distintas concentraciones de nuez. “Restructured beef with different proportions of walnut as affected by meat particle size”. *European Food Research and Technology*, 218 (2004): 230-236.

En este estudio se analizó como el empleo de diferentes tamaños de picado (0,6 y 1,4 cm de diámetro de orificio), condiciona las características de los filetes reestructurados de vacuno formulados con diferentes proporciones de nuez (0, 5, 10 y 15 %) (Figura III.2). Los reestructurados fueron precocinados hasta 70 °C en el centro térmico. Se analizó la composición, características físico-químicas [pH; propiedades ligantes (fluido total liberado); textura; color y microestructura] y sensoriales de los productos elaborados (Figura III.2).

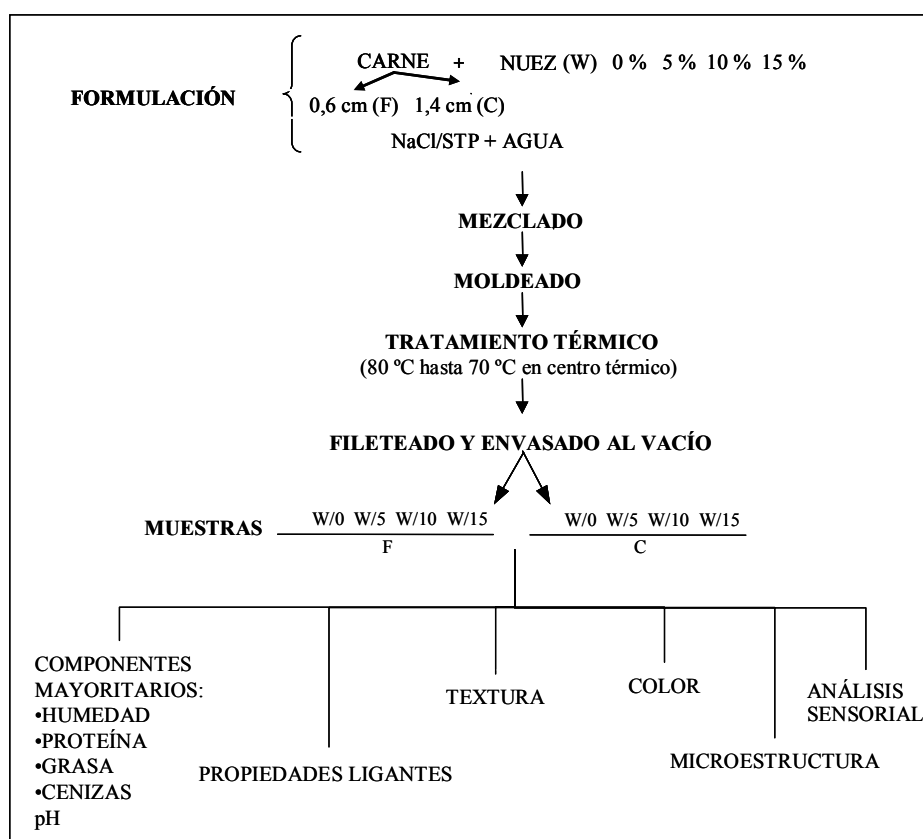


Figura III.2. Diseño del experimento y parámetros evaluados para el estudio del efecto del grado de desintegración estructural de la carne.

Los resultados obtenidos indicaron que el incremento en la concentración de nuez en general, dio lugar a una disminución ($P < 0,05$) de los parámetros de textura (KSF, BS y distancia de elongación). Sin embargo, los productos elaborados con el tamaño de picado mayor (1,4 cm), con 5 y 15 % de nuez, presentaron valores superiores de KSF ($P < 0,05$), que aquellos elaborados con el picado más fino (0,6 cm). Además, la incorporación de nuez provocó una reducción en el parámetro de color “L*” ($P < 0,05$), mientras que “a*” y “b*”, aumentaron. Sin embargo, dichos parámetros no experimentaron modificaciones ($P > 0,05$) con el tipo de picado. La microestructura del producto, mostró la interferencia que ejerce la nuez sobre la red proteica formada por gelificación, efecto que fue más evidente sobre las muestras de picado más grueso. Por otro lado, las propiedades sensoriales de los filetes con 5 y 10 % de nuez obtuvieron una mayor aceptación por el panel de catadores, siendo las valoraciones más altas para las muestras de picado más fino con un 10 % de nuez y las de picado más grueso con un 5 % de nuez.

Capítulo I.3. Transglutaminasa como agente ligante de filetes reestructurados frescos de vacuno con nuez incorporada. “*Transglutaminase as binding agent in fresh restructured beef steak with added walnuts*”. *Food Chemistry*, 85 (2004): 423-429.

El estudio planteado en este capítulo pretendió analizar las características de los filetes reestructurados elaborados con MTG/C (0,7/3 %) como agente gelificante en frío, con diferentes concentraciones de nuez (0, 10 y 20 %), sin sal y con la incorporación de sal (NaCl/STP, 2/0,3 %) y 10 % de nuez (Figura III.3). Los productos elaborados fueron conservados en refrigeración a 3 °C durante 6 días, determinándose su composición, características físico-químicas (pH; color; pérdidas de peso por conservación, cocción y totales; y textura) y parámetros sensoriales (Figura III.3).

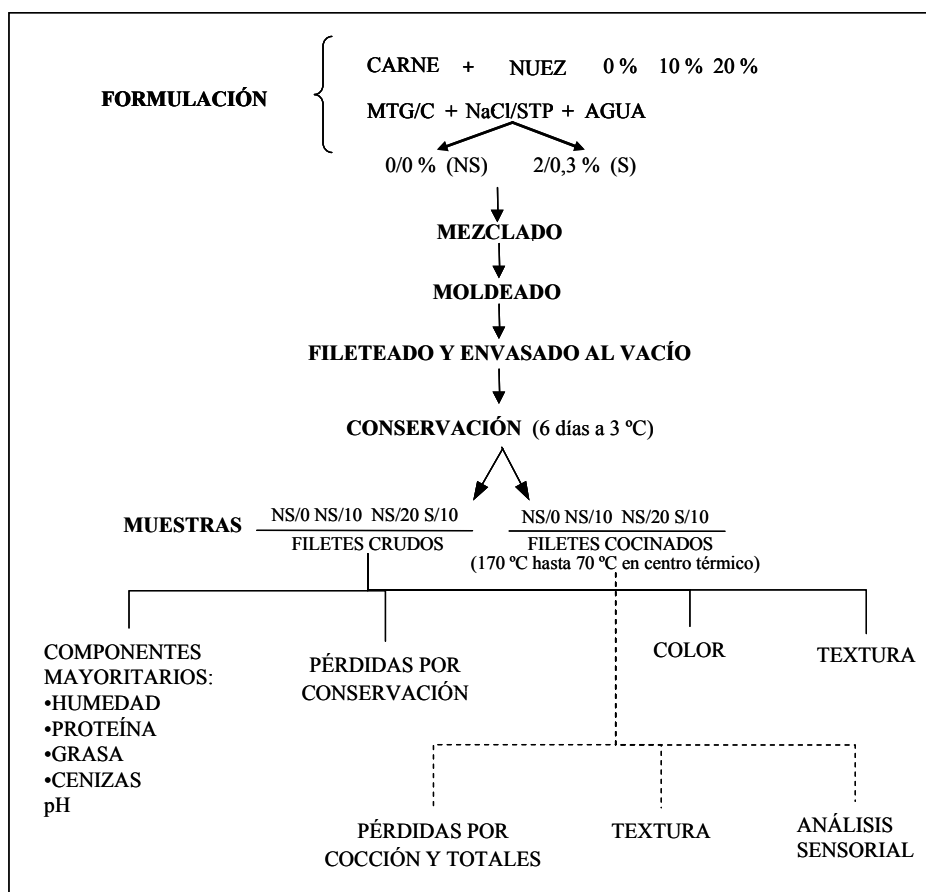


Figura III.3. Diseño del experimento y parámetros evaluados para el estudio del producto elaborado mediante un sistema de gelificación en frío con MTG/C.

Los resultados indicaron que la incorporación de sal y nuez provocó una disminución ($P < 0,05$) en las pérdidas de peso totales (suma de las pérdidas durante la cocción y conservación), las cuales aumentaron ($P < 0,05$) durante el periodo de conservación. Asimismo, la incorporación de nuez disminuyó ($P < 0,05$) la BS de los filetes tanto en estado crudo como después de ser sometidos a tratamiento térmico. La incorporación de MTG/C en la elaboración de los filetes de vacuno reestructurados, dotó al producto de aceptables características de cohesión (BS) haciéndolo apropiado para ser manipulado (como cualquier otro tipo de filete) en estado fresco. A pesar de ello, estos productos no presentaron adecuadas propiedades ligantes de agua tanto en estado crudo como cocinado. Esto supone que para evitar tales inconvenientes es necesario que junto a MTG/C, se ponga en práctica otras estrategias para favorecer interacciones entre el agua y las proteínas de la carne. Los filetes reestructurados con nuez presentaron adecuadas características sensoriales, siendo evaluados como aceptables por el panel de catadores.

Capítulo I.1

Características físico-químicas y sensoriales de filetes reestructurados de vacuno con nuez incorporada.

“Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts”.

Este capítulo corresponde a una publicación de la revista *Meat Science*, 65 (2003): 1391-1397.

Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts

F. Jiménez Colmenero^{a,*}, A. Serrano^a, J. Ayo^a, M.T. Solas^b, S. Cofrades^a, J. Carballo^a

^aInstituto del Frío (CSIC), Ciudad Universitaria, 28040-Madrid, Spain

^bDepartamento de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense, Ciudad Universitaria, 28040-Madrid, Spain

Received 22 October 2002; accepted 17 February 2003

Abstract

The effects of different proportions (0, 5, 10, 15%) of added walnuts on the physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak were evaluated. The addition of 10 and 15% walnut reduced ($P < 0.05$) cooking loss. Increasing proportions of walnut in the beef steak increased ($P < 0.05$) water binding and reduced ($P < 0.05$) fat binding properties. The addition of walnut did not affect ($P > 0.05$) textural properties in uncooked restructured beef steak, but in cooked products Kramer shear force and bind strength were reduced ($P < 0.05$) when 10% or more of walnut was added. Product morphology characteristics suggest that walnut interferes with the formation of protein network structures. Restructured steaks made with added walnut presented acceptable sensory properties. Incorporation of nuts in meat products can be used to confer potential heart-healthy benefits (Spanish Patent Application 200300367).

© 2003 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Restructured meat; Walnut; Physicochemical characteristics; Sensory properties

1. Introduction

Consumers today are increasingly interested in anything that improves their quality of life. Diet may not be the only factor determining well-being and health, but it is certainly one of the most important, and therefore there is increasing demand for safer and healthier foods. Although statistics vary, cardiovascular diseases are the principal cause of death in developed countries, and diet is one of the factors in the development of such diseases.

Epidemiological studies show that frequent consumption of nuts in general, and walnuts in particular, correlates inversely with myocardial infarction or death by vascular ischaemic disease regardless of other risk factors such as age, sex, smoking, hypertension, weight and exercise (Fraser, Sabaté, Beeson, & Strahan, 1992; Iwamoto et al., 2000; Sabaté, 1993). Studies of intervention in humans indicate that eating walnuts lowers serum cholesterol and favourably modifies the lipoprotein profile (Abbey, Noakes, Belling, & Nestel, 1994; Sabaté

et al., 1993). A daily intake of walnuts could reduce the risk of coronary disease by up to 11%, to judge by the reduction achieved in total and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol levels in men and women with hypercholesterolaemia (Zambón et al., 2000). The effect has been found to be beneficial in young, healthy men (Sabaté et al., 1993) and even more so in adults of both sexes with high cholesterol counts (Zambón et al., 2000).

Heart-healthy benefits are attributed to the peculiar nutritional makeup of walnuts. These have a high fat content (62–68%) and are rich in monounsaturated fatty acids (oleic acid, 18% of total fatty acids) and polyunsaturates (linoleic and α -linolenic acid, which respectively, account for 58 and 12% of total fatty acids); they also contain high levels of fibre (5–10%) and are a good source of proteins (14%) rich in arginin, antioxidant vitamins (tocopherols) and other micronutrients (Ravai, 1995; Sabaté, 1993). The cholesterol-reducing effects of intake of mono- and polyunsaturated fatty acids are well known (Anderson, 1987; Mattson & Grundy, 1985); specifically, a high intake of α -linolenic acid has been associated with protection against thrombosis

* Corresponding author. Fax: +34-91-549-3627.

E-mail address: fjimenez@if.csic.es (F.J. Colmenero).

and arrhythmia (Ascherio et al., 1996). Walnut polyphenols are effective inhibitors of *in vitro* human plasma and LDL oxidation, so they should be considered when evaluating their antiatherogenic potential (Anderson et al., 2001).

Because of the evident health benefit, there has been a tendency recently to stress the importance of including a certain amount of walnut in human diets. Nonetheless, for a variety of reasons consumption levels remain below what is recommended. Not many people can be persuaded to consume walnuts in their pure state every day over a long period; they are more likely to accept dishes prepared with it (Diehl, 2002). One way to promote walnut intake, would be to include it as an ingredient in frequently consumed foods, such as meat derivatives, which can thus be made to incorporate health benefits. Such products are especially important for consumers who are interested in benefiting from the improved quality of life to be derived from foods that more effectively meet individual dietary needs and help reduce the risk of certain diseases.

Restructured meats are becoming increasingly popular and possess numerous important advantages for the meat industry (Boles & Shand, 1999; Farouk, Hall, & Swan, 2000; Schmidt, Hollingswoorth, & Sleeth, 1987). As well as upgrading meat raw materials, these are safe, natural-looking foods of consistent quality, quick and easy to prepare, and they also facilitate automation, better safety guarantees, standardization and uniformity of chemical and nutritional composition. They look only minimally processed (steak, lean portions, etc.) and can be designed specially to appeal to very specific population groups in terms of their sensory characteristics and composition, thanks to the possibility they offer of incorporating ingredients such as walnut and promoting intake of bioactive compounds. Conventional restructured meat products are prepared using salt and phosphate because of the beneficial effect on meat product characteristics (cohesion, cook yield, etc.) (Farouk et al., 2000; Raharjo et al., 1995). They must be sold either precooked or frozen because the product does not bind very strongly in the raw state (Boles & Shand, 1999). Besides numerous ingredients derived from a variety of plant and animal sources, which are used to reduce cost and improve technological properties, restructured meat products, like other meat products (Jiménez Colmenero, Carballo, & Cofrades, 2001), have been produced with a variety of potentially health-promoting ingredients such as rice fibre and rice bran oil (Kim, Godber, & Prinaywiwatkul, 2000), phytate (Lee, Hendricks, & Cornforth, 1998), soy protein (Tsai, Unklesbay, Unklesbay, & Clarke, 1998), tocopherols (Miles, McKeith, Bechtel, & Novakofski, 1986), carrot (Saleh & Ahmed, 1998) and others.

Although incorporation of walnut in meat derivatives does have potential health benefits, no data are avail-

able on how it should be used to improve the characteristics of such products. The object of this paper was to evaluate the physicochemical and sensory characteristics of frozen restructured beef steak formulated with different proportions (0, 5, 10, 15%) of added walnut.

2. Materials and methods

2.1. Meat preparation and additives

Select beef top rounds (40 kg) were trimmed of fat and connective tissue and cut into strips (approx. 5×4×20 cm). Lots of approx. 2.5 kg were vacuum packed, frozen to $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in an air blast-freezer (air temperature $-37\text{ }^{\circ}\text{C}$) and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until use.

Additives used for preparation of restructured beef included sodium chloride and sodium tripolyphosphate (STP) (Panreac Quimica, S.A. Barcelona, Spain). Walnut was ground and refined (heating at $80\text{ }^{\circ}\text{C}/1\text{ h}$) down to a particle size of $12\text{ }\mu\text{m}$ (La Morella Nuts, S.A., Tarragona, Spain).

2.2. Preparation of products

For the preparation of restructured beef steak, meat packages were thawed (approx. 18 h at $3\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, reaching between -3 and $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$) and passed once through a grinder (Mainca, Granollers, Spain) with a 0.6 cm plate. Four different products were formulated (Table 1). The procedure was as follows. Meat was mixed for 1 min in a mixer (Mainca, Granollers, Spain); salt (1.5%) and STP (0.5%) were dissolved in water and chilled ($2\text{ }^{\circ}\text{C}$); this solution was added to the meat and the whole mixed again for 1 min. Finally, walnut was added and the whole mixed again for 2 min. Mixing time was standardized to 4 min and the final temperature was below $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ in all cases. Each batch was vacuum massaged for 1 h (Inject Start[®] MC 20, Hollstein & Fuhrmann GmbH, Wien, Austria) in a chilling room at $3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Batches were then formed in ham moulds (1250 g) and stored for 20 h at $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ to allow equilibration and salt-soluble protein extraction. Samples were then frozen and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until use. Frozen samples were

Table 1
Formulation of different restructured beef steaks

Samples W/walnut	Beef (g)	Salt + STP ^a (g)	Walnut (g)	Water (g)	Total (g)
W/0	2700	45 + 15	0	240	3000
W/5	2550	45 + 15	150	240	3000
W/10	2400	45 + 15	300	240	3000
W/15	2250	45 + 15	450	240	3000

^a STP, sodium tripolyphosphate.

sliced (Mainca, Granollers, Spain) into steaks (134 ± 3 g; 1.0 ± 0.05 cm thick) for evaluation.

2.3. Chemical analysis and pH

Moisture, fat and ash content of the meat and raw samples were determined (AOAC, 1984) in quadruplicate. Protein content was measured in quadruplicate by a Nitrogen Determinator LECO FP-2000 (Leco Corporation, St Joseph, MI). The pH of the raw batters and cooked products were determined in duplicate using a pH meter (Radiometer PHM 93, Copenhagen, Denmark) on a homogenate of 10 g sample in 100 ml distilled water.

2.4. Thawing loss, cooking loss and dimensional changes

Three restructured beef steaks from each formulation were thawed at 3 °C. After 24 h, steak surfaces were manually wiped with a paper towel to remove visible exudate. Thawing loss was calculated as weight loss (%). The thawed steaks were cooked in a forced air oven (Rational CM6, Großküchentechnik GmbH, Landsberg a. Lech) (at 170 °C) to a core 70 °C determined beforehand by inserting thermocouples, which were connected to a temperature recorder (Yokogawa Hokushin Electric YEW, model 3087, Tokyo, Japan). After 30 min at room temperature, steaks were kept for 16 h at 3 °C. Cooking loss was calculated as weight loss (%). The thickness (six locations per slice) and surface of three steaks per formulation were measured before and after cooking. Dimensional changes (thickness and surface shrinkage) were calculated as per cent change due to cooking.

2.5. Water and fat binding properties

Roughly 25 g of cubes (approx. 1 cm²) were cut from three frozen restructured beef steaks and placed in plastic containers (diam 3.4 cm). These were hermetically sealed and heated (30 min, 70 °C) in a waterbath. After heating, the containers were opened and left to stand upside down (for 40 min) to release the exudate. Total loss (TL) was expressed as % of initial sample weight. Water loss (WL) was determined as % weight loss after heating the total released fluid (TL) for 16 h on a stove at 100 °C. Fat loss (FL) was calculated as the difference between TL and WL. WL and FL were expressed as % of total loss. Determinations were carried out in quadruplicate.

2.6. Textural properties

Portions of different types were prepared from three frozen restructured beef steaks per formulation. Four portions (5×5×1 cm) were obtained per formulation to

assess the ability of the meat pieces to adhere to one another (bind strength), in a procedure similar to that of Field et al., (1984). These portions were thawed (5 h, 3 °C) and the bind strength was measured as the peak force (N) required for a 1.9 cm ball, at a cross head speed of 100 mm/min (in a 500 N load cell), to break through a meat slice mounted on a ring of 3.2 cm inner diameter. Extension at failure (elongation, mm) was estimated as the distance travelled by the ball after contact with the sample surface before the ball bursts through (peak force) (Field et al., 1984).

Six (6×1×1 cm) portions per formulation were prepared and, after thawing (5 h, 3 °C), were used to measure Kramer shear force (KSF) with the Kramer shear attached to a 2.5 KN load cell (cross head speed 120 mm/min). KSF (N/g) was expressed as maximum load per gram of sample.

Similar instrumental texture analyses were carried out on identical cooked portions cut from restructured steaks used to determine cooking loss and dimensional changes. Instrumental texture analysis was conducted using a TA-XT2 Texture Analyser (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY). Raw samples were measured at 4–8 °C and cooked samples were measured at room temperature.

2.7. Surface colour

Surface colour (lightness, L^* , redness, a^* and yellowness b^*) of raw and cooked samples was evaluated on a HunterLab model D25-9 (D45/2°) (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA). Colour determinations were performed immediately before bind strength analysis on the same portions. Four pieces per formulation and four determinations per piece were made.

2.8. Microstructure

The microstructure was analysed by scanning electron microscopy (SEM). The raw samples (previously thawed) were fixed with a mixture (1:1 v/v) of paraformaldehyde (4%) and glutaraldehyde (0.2%) in 0.1 M phosphate buffer pH 7.2, post-fixed with OsO₄, washed, dehydrated in increasing concentrations of acetone, critical-point-dried, sputter-coated with gold/palladium in a metallizer (Balzer, SCD004) and scanned by SEM (Jeol, JSC,6400, Akishima, Tokyo, Japan) at 20 kV. A large number of micrographs were taken in order to select the most representative ones.

2.9. Sensory evaluation

Samples from each formulation were randomly assigned for sensory evaluation. Cooked restructured beef steaks were cut into pieces of uniform size and served warm (~45 °C) to a 10 member panel. The panel

consisted of staff who were selected in preliminary sessions and trained (two sessions) in the products and terminology. A description of attributes was discussed with the panel members. Panellists were asked to evaluate the samples on a non-structured scale (of 10 cm) without fixed extremes, with reference to the following parameters: flavour, texture, and overall acceptability. Each point marked was converted to a numerical value from 0 (dislike extremely) to 10 (like extremely) according to location. At the same time, panellists were asked to evaluate the off-flavour on a scale of 1 (none) to 5 (intense). Sensory evaluation was conducted under red light to minimize perceptions of colour caused by the different proportion of walnut. Each panellist was presented with four samples per session.

2.10. Statistical analysis

Data were analysed using Statgraphics Plus 2.1 (STSC Inc., Rockville, MD) for one-way ANOVA. The least squares method was used to identify significant differences ($P < 0.05$) among treatments.

3. Results and discussion

3.1. Proximate analysis and pH

The proportion of added walnut significantly affected the proximate analysis of restructured beef steak (Table 2). Although protein and ash contents were similar ($P > 0.05$), addition of walnut gradually increased ($P < 0.05$) fat values and reduced ($P < 0.05$) moisture values (Table 2). These results are consistent with meat product formulations (Table 1) where meat was replaced by added walnut. The fat content of the restructured steak was lower than in comparable products (Sheard, Nute, & Chappell, 1998) but in this case was more than 70% derived from walnut. From a health standpoint, therefore, the lipid profile for restructured beef is better.

Addition of walnut produced no significant differences in pH in raw (mean value 5.84 ± 0.04) and cooked

(6.03 ± 0.03) meat products. The increase of pH due to cooking was similar for all raw beef steaks. Tsai et al. (1998) reported similar heating-dependent pH changes for various binders in restructured beef.

3.2. Thawing loss, cooking loss and dimensional changes

Restructured beef steaks presented low thawing losses (0.10–0.32%) (Table 3). Beef steaks restructured with 0.5% NaCl/0.5% phosphate, which is lower than the salt concentration in this experiment, present around a 1% thawing loss (Raharjo et al., 1995). Addition of walnut reduced cooking loss, but significantly only when 10% or more of walnut was added (Table 3). The cooking loss levels observed in this experiment (19–23%) are comparable to those reported in similar products, for which ranges of 15–40% have been described (Boles & Shand, 1999; Chen & Trout, 1991; Sheard et al., 1998) with reference to a number of different variables (composition, additives, cooking methods, oven temperature, sample dimensions, etc.). Restructured beef steak with 0.5% NaCl and 0.5% phosphate have been reported to cause cooking loss of over 30% (Raharto et al., 1995), of 22% in the presence of 1.4% NaCl and 0.32% de STP (Means, Clarke, Sofos, & Schmidt, 1987), and around 20% with 1.5% NaCl and 0.5% STP (Shao, Avens, Schmidt, & Maga, 1999).

Dimensional changes are important in maintaining quality standards of beef steak, and the impact of added walnut must therefore be evaluated in this connection. The surface of all steaks shrank after cooking by between 17.9 and 20.9% (Table 3). However these shrinkages were not affected ($P > 0.05$) by the treatments. The thickness of all steaks decreased after cooking, and the effect was similar ($P > 0.05$) in all three formulations containing walnut. Only in sample W/15 was the change in thickness greater ($P < 0.05$) than in the control sample (Table 3). There were no significant ($P > 0.05$) correlations between dimensional changes and cooking loss. The dimensional changes observed in this experiment are comparable with those reported by other authors for products of this kind (Chen & Trout, 1991; Rocha-Garza & Zayas, 1996).

Table 2
Proximate analysis (%) of raw restructured beef steak

Samples	Moisture	Protein	Fat	Ash
W/0	75.3a	19.4	1.4a	2.9
W/5	71.9b	20.1	4.4b	2.8
W/10	68.5c	19.3	6.5c	2.8
W/15	63.6d	19.5	8.1d	2.8
S.E.M. ^a	0.16	0.11	0.10	0.03

For sample denomination see Table 1. Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

^a S.E.M., standard error of the mean.

Table 3
Thawing loss (%), cooking loss (%) and cooking dimensional changes (surface and thickness shrinkage) (%) of restructured beef

Samples	Thawing loss	Cooking loss	Surface	Thickness
W/0	0.32a	23.6a	20.9	5.1a
W/5	0.30ab	21.7ab	20.3	10.9ab
W/10	0.10b	19.2b	17.9	8.3ab
W/15	0.29ab	19.6b	20.3	12.2b
S.E.M. ^a	0.04	1.11	1.87	1.78

For sample denomination see Table 1. Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

^a S.E.M., standard error of the mean.

3.3. Water and fat binding properties

Quality characteristics of meat products such as texture, structural binding and yield are determined by the ability of the protein matrix to retain water and bind fat (Rocha-Garza & Zayas, 1996). As in cooking loss, addition of walnut reduced ($P < 0.05$) the total exudate released (Table 4); this reduction was greatest in sample W/15. Water and fat binding properties behaved in opposite ways; water loss decreased ($P < 0.05$) with increasing proportions of walnut, while fat loss increased ($P < 0.05$). This behaviour may be associated with the relative content of the two constituents in the different samples (Table 2).

3.4. Textural properties

In all cases the KSF and bind strength values in raw meat products were similar ($P > 0.05$) and very low (Table 5); these meat product structures are not really suitable for handling of product in the raw state. Cooking increased KSF and bind strength but decreased extension at failure in beef steak (Table 5). Similar results have been reported by Farouk et al. (2000). Addition of walnut had no effect on uncooked restructured steak, but in cooked products, both shear force and bind strength were significantly reduced when 10% or more of walnut was added (Table 5). Bind strength and KSF decreased by around 40% in the presence of 15% walnut. Given similar protein content (Table 2), this effect may be related to a number of factors. The increasing proportions of fat in samples containing walnut could have reduced the cohesiveness among meat pieces, so that extension at failure was lower (faster penetration) and less applied force (KSF and bind strength) was required (Table 5). Softer textures with increasing fat content have been reported in restructured beef steak (Penfield, Costello, McNeil, & Riemann, 1988), but the same effect has not been observed in other cases (Berry, 1987). Addition of ingredients also reduces the proportion of water available to form a gel matrix between meat pieces, which could again limit the binding process (Farouk et al.,

2000). Various authors have reported that the addition of some ingredients to meat products produced structures that were less rigid and more easily broken. This behaviour was attributed primarily to the dilution effect of non-meat ingredients in meat protein systems (Rocha-Garza & Zayas, 1996; Tsai et al., 1998) or to their ability to reduce friction and/or binding among meat particles (Saleh & Ahmed, 1998); or again, in relation to cooking yield, it was suggested that less cooking loss made for products that were less rigid and more easily broken apart during binding valuations (Shao et al., 1999).

3.5. Surface colour

Colour evaluation was performed to detect tendencies for walnut addition to cause changes in raw and cooked beef steak. Walnut increased ($P < 0.05$) lightness in raw product and decreased ($P < 0.05$) it in cooked beef (Table 6). Redness was different: walnut decreased ($P < 0.05$) a^* values in raw product to as low as 40% in the case of sample W/15, and increased ($P < 0.05$) them in restructured products when these were cooked (Table 6). Raw products with added walnut presented higher ($P < 0.05$) values of b^* . Changes in colour similar to those observed in raw products with added walnut (reduced redness and increased lightness) have been attributed to the dilution of meat pigment in beef steak due to the presence of non-meat ingredients (Rocha-Garza & Zayas, 1996). Cooking caused colour changes (Table 6), generally entailing increased lightness and decreased redness and yellowness (Lee et al., 1998; Rocha-Garza & Zayas, 1996).

3.6. Microstructure

Because the shapes and sizes of meat particles vary, there are relatively large variations of microstructure; however, it is worth highlighting some main aspects. As Fig. 1a shows, sample W/0 (all-beef) contained some mesh-like structures which partially and unevenly covered

Table 4
Water and fat binding properties of restructured beef

Samples	TL	WL	FL
W/0	15.08a	90.96a	9.04a
W/5	12.24b	89.45b	10.31b
W/10	12.04b	88.32c	11.67c
W/15	10.20c	86.47d	13.52d
S.E.M. ^a	0.42	0.18	0.18

Total (TL, % of sample weight), water (WL, % of TL) and fat (FL, % of TL) losses. For sample denomination see Table 1. Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

^a S.E.M., standard error of the mean.

Table 5
Textural properties of raw and cooked restructured beef

Samples	Kramer shear force (N/g)		Bind strength (N)		Extension at failure (mm)	
	Raw	Cooked	Raw	Cooked	Raw	Cooked
W/0	0.96	11.04a	1.41	13.70a	15.16a	11.89a
W/5	1.00	9.61a	1.15	13.54a	12.41ab	10.16ab
W/10	0.99	6.67b	1.44	10.77b	13.19ab	9.41b
W/15	0.97	6.79b	1.10	8.62c	11.79b	7.22c
S.E.M. ^a	0.02	0.35	0.10	0.64	0.72	0.42

For sample denomination see Table 1. Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

^a S.E.M., standard error of the mean.

Table 6

Colour parameters (lightness, L^* ; redness a^* ; yellowness b^*) of raw and cooked restructured beef

	Raw			Cooked		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
W/0	33.74a	16.71a	13.2a	45.92a	3.82a	11.07a
W/5	39.61b	14.51b	14.62b	44.78b	4.76b	11.59b
W/10	42.09c	11.88c	14.60b	44.21b	5.95c	11.60b
W/15	41.93c	10.18d	15.07b	41.96c	5.94c	11.45ab
S.E.M. ^a	0.47	0.17	0.34	0.22	0.15	0.16

For sample denomination see Table 1. Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

^a S.E.M., standard error of the mean.

Table 7

Sensory evaluation of cooked restructured beef steak^a

Samples	Flavour	Off-flavour	Texture	Overall acceptability
W/0	4.1	1.1a	4.4	5.0
W/5	5.7	2.1b	4.3	5.6
W/10	5.7	3.4c	5.8	5.8
W/15	5.6	3.7c	5.8	6.1
S.E.M. ^b	0.5	0.2	0.7	0.5

Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

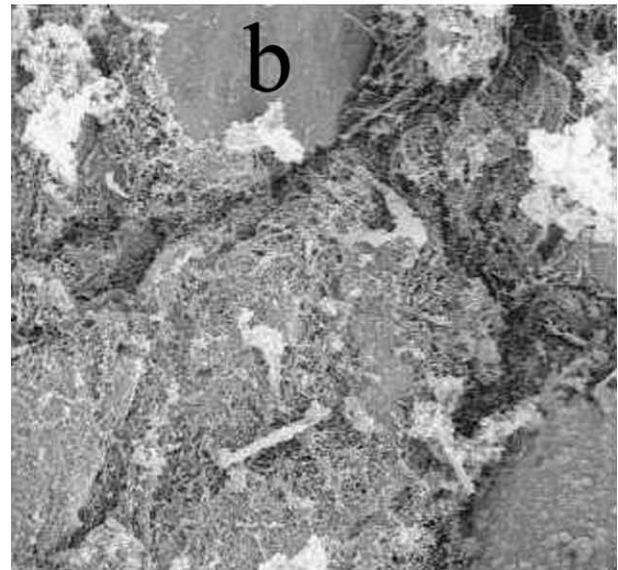
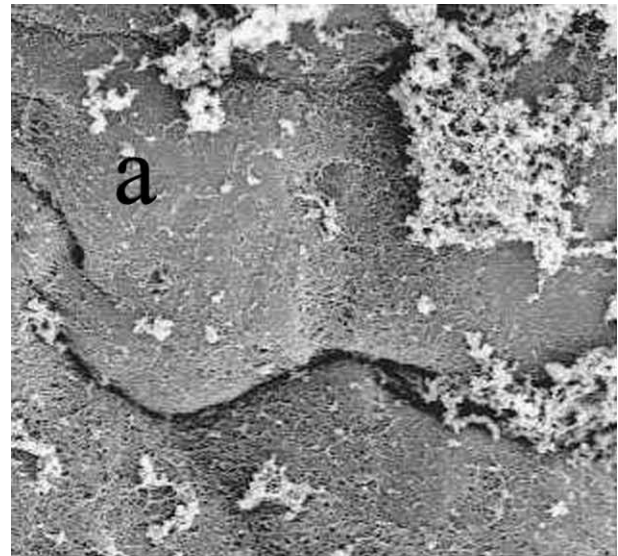
^a For sample denomination see Table 1. Flavour, texture and overall acceptability scale (0: dislike extremely and 10: like extremely). Off-flavour scale (1: none and 5: intense).

^b S.E.M., standard error of the mean.

the surface of the meat particles. This protein exudate, which is favoured by the solubilizing action of salt and STP and mechanical treatment (massaging), possesses binding qualities (Katsaras & Peetz, 1989). The addition of walnut altered the microstructure of the beef steak (Fig. 1b, W/15); the muscle pieces were coated by the walnut components, so that there was greater separation of meat particles. At the same time, protein network structures became less continuous and more dispersed. This behaviour limited the ability of meat particles to bind, thus making for soft textures (Table 5). The morphology of samples containing 5 and 10% added walnut (data not shown) was intermediate between that of the control (W/0) and the sample containing the maximum added walnut (W/15).

3.7. Sensory attributes

Sensory evaluation indicated that walnut presented some effects on sensory quality of restructured steak (Table 7). The sensory panel score for the control sample was about half-way up the scale. The panel were able to detect the addition of walnut as a slight off flavour (walnut-like) which was more noticeable ($P < 0.05$) the higher the percentage of added walnut. The panel



30 μm

Fig. 1. Scanning electron micrographs of beef steak: (a) W/0, control sample without walnut added, (b) sample with 15% walnut (W/15).

viewed this positively in that although flavour, texture and overall acceptability scores were not statistically different from the control, they did tend to be enhanced in the presence of walnut (Table 7).

In addition to traditional presentations, the meat industry has a number of options available to modify the qualitative and quantitative composition of its components for health purposes. Walnut confers potential heart-healthy benefits. It can be more readily ingested if it is incorporated in frequently consumed foods of suitable characteristics such as restructured

meat products. The addition of walnut affects the cooking properties, colour, texture and sensory attributes of restructured beef steak, so that products are softer and have better water binding properties. In conclusion, our results indicated that steaks with added walnut possessed acceptable physicochemical and sensory properties. Additional studies need to be addressed as regards the use of walnut in meat products (work in progress). At the same time, the potential heart-healthy benefits conferred by walnut in such meat derivatives are currently being assessed in terms of bioavailability and their impact on intermediate cardiovascular risk markers in humans.

Acknowledgements

This research was supported under project AGL2001-2398-C03-01. Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I). Ministerio de Ciencia y Tecnología. Thanks are due to “La Morella Nuts, S.A.” for supplying the walnuts.

References

- Abbey, M., Noakes, M., Belling, G. B., & Nestel, P. (1994). Partial replacement of saturated fatty acids with almonds or walnuts lowers total plasma cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59(5), 995–999.
- Anderson, J. W. (1987). Dietary fiber, lipids and atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*, 60(12), 17G–22G.
- Anderson, K. J., Teuber, S. S., Gobeille, A., Cremin, P., Waterhouse, A. L., & Steinberg, F. M. (2001). Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. *Journal of Nutrition*, 131(11), 2837–2842.
- AOAC. (1984). *Official methods of analysis* (14th ed.). Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Ascherio, A., Rimm, E. B., Giovannucci, E. L., Spiegelman, D., Stampfer, M., & Willett, W. C. (1996). Dietary fat and risk of coronary heart disease in men: cohort follow-up study in the United States. *British Medical Journal*, 313(7049), 84–90.
- Berry, B. W. (1987). Texture in restructured meats. In A. M. Pearson, & R. T. Dutson (Eds.), *Advance in meat research* (Vol. 3) (pp. 271–305). New York: Van Nostrand.
- Boles, J. A., & Shand, P. J. (1999). Effects of raw binder system, meat cut and prior freezing on restructured beef. *Meat Science*, 53(4), 233–239.
- Chen, C. M., & Trout, G. R. (1991). Sensory, instrumental texture profile, and cooking properties of restructured beef steaks made with various binders. *Journal of Food Science*, 56(6), 1457–1460.
- Diehl, J. F. (2002). *The stage is set for nutrition message in Europe*. International Tree Nut Council (INC). Available: http://inc.treenuts.org/art_apr01_2.html.
- Farouk, M. M., Hall, W. K., & Swan, J. E. (2000). Attributes of beef sausages, batters, patties and restructured roasts from two boning systems. *Journal of Muscle Foods*, 11(3), 197–212.
- Fraser, G. E., Sabaté, J., Beeson, W. L., & Strahan, T. M. (1992). A possible protective effect of nut consumption on risk of coronary heart disease. *Archives of Internal Medicine*, 152(7), 1416–1424.
- Field, R. A., Williams, J. C., Prasad, V. S., Cross, H. R., Secrit, J. L., & Brewer, M. S. (1984). An objective measurement for evaluation of bind in restructured lamb roasts. *Journal of Texture Studies*, 15(2), 173–178.
- Iwamoto, M., Sato, M., Kono, M., Hirooka, Y., Sakai, K., Takeshita, A., & Imaiuzumi, K. (2000). Walnuts lower serum cholesterol in Japanese men and women. *Journal of Nutrition*, 130(2), 171–176.
- Jiménez Colmenero, F., Carballo, J., & Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59(1), 5–13.
- Katsaras, K., & Peetz, P. (1989). Scanning electron microscopy in meat research. *Alimenta*, 6, 119–122.
- Kim, J. S., Godber, J. S., & Prinyawiwatkul, W. (2000). Restructured beef roasts containing rice bran oil and fiber influences cholesterol oxidation and nutritional profile. *Journal of Muscle Foods*, 11(2), 111–127.
- Lee, B. J., Hendricks, D. G., & Cornforth, D. P. (1998). Effect of sodium phytate, sodium pyrophosphate and sodium tripolyphosphate on physico-chemical characteristics of restructured beef. *Meat Science*, 50(3), 273–283.
- Mattson, F. H., & Grundy, S. M. (1985). Comparison of effects of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *Journal of Lipid Research*, 26(2), 194–202.
- Means, W. J., Clarke, A. D., Sofos, J. N., & Schmidt (1987). Binding, sensory and storage properties of alginate/calcium structured beef steaks. *Journal of Food Science*, 52(2), 252–256, 262.
- Miles, R. S., McKeith, F. K., Bechtel, P. J., & Novakofski, J. (1986). Effect of processing, packaging and various antioxidants on lipid oxidation of restructured pork. *Journal of Food Protection*, 49(3), 222–225.
- Penfield, M. P., Costello, C. A., McNeil, M. A., & Riemann, M. J. (1988). Effects of fat level and cooking methods on physical and sensory characteristics of restructured beef steaks. *Journal of Food Quality*, 11(5), 349–356.
- Ravai, M. (1995). California walnuts. The natural way to healthier heart. *Nutrition Today*, 30(4), 173.
- Raharjo, S., Dexter, D. R., Worfel, R. C., Sofos, J. N., Solomon, M. B., Shultz, G. W., & Schmidt, G. R. (1995). Quality characteristics of restructured beef steaks manufactured by various techniques. *Journal of Food Science*, 60(1), 68–71.
- Rocha-Garza, A. E., & Zayas, J. F. (1996). Quality of broiled beef patties supplemented with wheat germ protein flour. *Journal of Food Science*, 61(2), 418–421.
- Sabaté, J. (1993). Does nut consumption protect against ischaemic heart disease? *European Journal of Clinical Nutrition*, 47(1), S71–S75.
- Sabaté, J., Fraser, G. E., Burke, K., Knutsen, S., Bennett, H., & Lindsted, K. D. (1993). Effects of walnuts on serum lipids levels and blood pressure in normal men. *New England Journal of Medicine*, 328(9), 603–607.
- Saleh, N. T., & Ahmed, Z. S. (1998). Impact of natural sources rich in provitamin A on cooking characteristics, colour, texture and sensory attributes of beef patties. *Meat Science*, 50(3), 285–293.
- Shao, C. H., Avens, J. S., Schmidt, G. R., & Maga, J. A. (1999). Functional, sensory and microbiological properties of restructured beef and emu steak. *Journal of Food Science*, 64(6), 1052–1054.
- Sheard, P. R., Nute, G. R., & Chappell, A. G. (1998). The effect of cooking on the chemical composition of meat products with special reference to fat loss. *Meat Science*, 49(2), 175–191.
- Schmidt, G. R., Hollingsworth, C. A., & Sleeth, R. B. (1987). Future of restructured meat and poultry products. In A. M. Pearson, & R. T. Dutson (Eds.), *Advance in meat research* (Vol. 3) (pp. 489–496). New York: Van Nostrand.
- Tsai, S. J., Unklesbay, N., Unklesbay, K., & Clarke, A. (1998). Textural properties of restructured beef products with five binders at four isothermal temperatures. *Journal of Food Quality*, 21(5), 397–410.
- Zambón, D., Sabaté, J., Muñoz, S., Campero, B., Casals, E., Merlos, M., Laguna, J. C., & Ros, E. (2000). Substituting walnuts for monounsaturated fat improves the serum lipid profile of hypercholesteremic men and women. *Annals of Internal Medicine*, 132(7), 538–546.

Capítulo I.2

Influencia de diferentes tamaños de partícula cárnica sobre reestructurados de vacuno elaborados con distintas concentraciones de nuez.

“Restructured beef with different proportions of walnut as affected by meat particle size”.

Este capítulo corresponde a una publicación de la revista *European Food Research and Technology*, 218 (2004): 230-236.

Susana Cofrades · Asunción Serrano · Josune Ayo ·
Maria T. Solas · José Carballo ·
Francisco Jiménez Colmenero

Restructured beef with different proportions of walnut as affected by meat particle size

Received: 23 June 2003 / Revised: 2 September 2003 / Published online: 25 October 2003
© Springer-Verlag 2003

Abstract Microstructure, texture, colour and sensory properties of precooked restructured beef made with different proportions of walnut (0, 5, 10, 15%) were studied in relation to meat particle size (grinder plate hole: 0.6 and 1.4 cm). In general, increasing amounts of walnut were matched by decreasing Kramer shear force (KSF), bind strength and elongation values. When walnut (5 and 15%) was added, products made with coarsely ground meat presented higher KSF values than those made with finely ground meat. Walnut decreased lightness and increased redness and yellowness. Morphology characteristics suggest that walnut interferes with the formation of a gel protein network. Sensory properties were judged acceptable with 5 and 10% of walnut; however, the products scored highest with 10% walnut in finely ground products and 5% walnut in coarsely ground products.

Keywords Restructured meat · Walnut · Meat particle size · Texture · Microstructure · Colour · Sensory properties

Introduction

Cardiovascular diseases are the first cause of death in the developed world. One of the principal strategic approaches to prevention is based on the modification of diet, which is known to be one of the factors implicated in the development of such diseases. Recent studies have shown

that frequent intake of walnuts reduces the risk of cardiovascular diseases; this has been associated with the fact that consumption of walnuts lowers serum cholesterol and favourably modifies the lipoprotein profile [1, 2, 3]. A daily intake of walnuts could reduce the risk of coronary disease by up to 11%, to judge by the reduction achieved in total and LDL (low-density lipoprotein) cholesterol levels in men and women with hypercholesterolaemia [3]. The health benefits of walnut have been attributed, at least in part, to their peculiar lipid make up: they have a high fat content (62–68%) and are rich in monounsaturated fatty acids (18% oleic acid with respect to total fatty acids) and polyunsaturates (linoleic and α -linolenic acid, accounting respectively for 58 and 12% of total fatty acids). In addition, other health-related compounds are present: fibre (5–10%), arginin-rich proteins (14%), tannins, folates and polyphenols [1, 4]. It is well known that intake of mono- and polyunsaturated fatty acids and dietary fibre have cholesterol-lowering properties [5, 6]. Also, walnut polyphenols are effective inhibitors of *in vitro* human plasma and LDL oxidation [7].

Because of the potential health benefits attributed to walnut, more frequent intake is now being recommended [1, 2, 3, 4]. It has been noted that the lipid profile in the diet might be improved by partially substituting walnuts for some types of foods and oils [3]. However, not many people can be motivated to consume walnuts in their pure state every day over a long period [8], and intake is generally lower than recommended. Since consumers are more likely to accept dishes prepared with it [8], one way to promote walnut intake would be to include these as an ingredient in frequently-consumed foods such as meat derivatives, which can thus be made to incorporate health benefits [9].

Restructuring technology makes it possible to produce value-added meat derivatives with considerable advantages for both consumers and processors [10]. Such products are especially suited to reformulation strategies entailing changes of composition and addition of biologically active compounds which thus impart functional

S. Cofrades · A. Serrano · J. Ayo · J. Carballo ·
F. Jiménez Colmenero (✉)
Instituto del Frío (CSIC),
Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, Spain
e-mail: fjimenez@if.csic.es
Fax: +34 91 5493627

M. T. Solas
Departamento de Biología Celular,
Facultad de Ciencias Biológicas,
Universidad Complutense,
Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, Spain

food properties. The incorporation of components that furnish additional physiological benefits has been assayed in a variety of meat products [11], including restructured meats with added rice fibre and rice bran oil [12], phytate [13], soy protein [14], tocopherols [15], carrot [16], and others.

Restructured meat products are traditionally prepared using salt and phosphate which, with the aid of mechanical action, promote the extraction of myofibrillar proteins. Upon cooking, these form a stable protein matrix with a beneficial effect on meat product characteristics (cohesion, cook yield, etc.) [17, 18, 19]. Such products can only be marketed either precooked or frozen as the product binding is not very strong in the raw state [19]. Jiménez Colmenero et al. [9] reported that addition of walnut to frozen beef steak results in a product with acceptable physicochemical and sensory properties. However, no data are available as to the effect of walnut on precooked restructured meats.

Different size reduction methods have been used to manufacture restructured meat. Grinding the meat has been the favoured method, probably because it is the easiest one [19]. Meat particle types (size and shape) can affect both the characteristics of the final product (texture, colour, sensory properties and others) [10, 19, 20, 21, 22] and the technological effect of added non-meat ingredients [19, 23]. Differences in the exposed surface area of meat particles produce changes in protein extraction [10] and increase exposure and contact of meat constituents with added non-meat ingredients (e.g., walnut), which can influence their effect on product characteristics. It has been reported that particle sizes of 0.8–1.5 cm result in products that looked more like whole muscle products [18, 20].

Although incorporation of walnut in meat derivatives does have potential health benefits, no data are available on how it should be used to improve the restructured meat characteristics. The object of this paper was to evaluate the microstructure, texture, colour and sensory characteristics of precooked restructured beef formulated with different proportions (0, 5, 10, 15%) of added walnut as influenced by the meat particle size (grinder plate hole: 0.6 and 1.4 cm).

Materials and methods

Meat preparation and additives

Selected beef top rounds (40 kg) were trimmed of fat and connective tissue and cut into strips (approx. 5×4×20 cm). Lots of approx. 2.5 kg were vacuum packed, frozen to -20 °C in an air

blast-freezer (air temperature -37 °C) and stored at -20 °C until use, which took place within 3 weeks. Additives used for preparation of restructured beef included sodium chloride and sodium tripolyphosphate (STP) (Panreac Quimica, S.A. Barcelona, Spain). Walnuts were ground and refined (heating at 80 °C, 1 h) down to a particle size of 12 µm (La Morella Nuts, S. A., Tarragona, Spain).

Product preparation

Meat packages were thawed (approx. 18 h at 3±2 °C, reaching between -3 and -5 °C) and passed once through a grinder (Mainca, Granollers, Spain) with a 0.6-cm plate (finely ground) or a 1.4-cm plate (coarsely ground). Four different products were formulated (Table 1). Meat was mixed for 1 min in a mixer (Mainca, Granollers, Spain); salt (1.5%) and STP (0.5%) were dissolved in water and chilled (2 °C); this solution was added to the meat and the whole mixed again for 1 min. Finally, walnut was added and the whole mixed again for 2 min. Mixing time was standardized to 4 min. The final temperature was below 10 °C in all cases. Each batch was vacuum massaged for 1 h (Inject Start[®] MC 20, Hollstein & Fuhrmann GmbH, Vienna, Austria) in a chilling room at 3 °C. A portion of each formulation was taken for determination of proximate analysis and physicochemical characteristics of raw sample. Batches were then placed in ham moulds (1,250 g) and stored for 20 h at 3 °C to allow equilibration and salt-soluble protein extraction. The samples were then cooked in their moulds in a forced-air oven (at 80 °C) (Rational CM6, Großküchentechnik GmbH, Landsberg a. Lech) to a core temperature of 70 °C determined beforehand by inserting thermocouples connected to a temperature recorder (Yokogawa Hokushin Electric YEW, Mod. 3087, Tokyo, Japan). After thermal treatment, samples were kept for 2 h at room temperature (20–22 °C) and chilled overnight at 3 °C. Slices 1.0 cm (±0.08 cm) thick were prepared (Mainca, Granollers, Spain) for evaluation.

Proximate analysis and pH

Moisture, fat and ash content of the raw samples were determined [24] in quadruplicate. Protein content was measured in quadruplicate by a Nitrogen Determinator LECO FP-2000 (Leco Corporation, St Joseph, MI). The pH of the cooked products was determined in duplicate using a pH meter (Radiometer PHM 93, Copenhagen, Denmark) in a homogenate of 10-g sample in 100 ml of distilled water.

Water and fat binding properties

Aliquots of each raw sample were frozen at -20 °C and then cut into cubes (approx. 1 cm³). Roughly 25 g of these cubes were placed in plastic containers (diam 3.4 cm), hermetically sealed and heated (30 min, 70 °C) in a water bath. After heating, the containers were opened and left to stand upside down (for 40 min) to release the exudate. Exudate loss, consisting of the water and fat released during thermal treatment, was expressed as g per kg of initial sample (%). Determinations were carried out in quadruplicate.

Table 1 Formulation of batches of restructured beef

Samples	Beef (g)	Salt+STP ^a (g)	Walnut (g)	Water (g)	Total (g)
W/0	2700	45+15	0	240	3000
W/5	2550	45+15	150	240	3000
W/10	2400	45+15	300	240	3000
W/15	2250	45+15	450	240	3000

^a Sodium tripolyphosphate

The microstructure was analysed by scanning electron microscopy (SEM). The samples were fixed with a mixture (1:1 v/v) of paraformaldehyde (4%) and glutaraldehyde (0.2%) in 0.1-M phosphate buffer pH 7.2, post-fixed with OsO₄, washed, dehydrated in increasing concentrations of acetone, critical-point-dried, sputter-coated with gold/palladium in a metallizer (Balzer, SCD004) and scanned by scanning electron microscopy (Jeol, JSC,6400, Akishima, Tokyo, Japan) at 20 kV. A large number of micrographs were taken in order to select the most representative ones.

Textural properties

Various portion types were prepared from three slices of each formulation. Four (5×5×1 cm) portions were obtained per formulation to assess the ability of the meat pieces to adhere to one another. The bind strength was measured as the peak force (N) required for a 1.9-cm ball, at a cross head speed of 100 mm/min (in a 500-N load cell) to break through the meat slice mounted on a ring with 3.2-cm inside diameter (modification of Field et al. [25]). Elongation was estimated as the distance (mm) travelled by the ball after contact with the sample surface before the ball bursts through (peak force).

Six (6×1×1 cm) portions per formulation were used to measure Kramer shear force (KSF) with a Kramer shear attached to a 2.5-kN load cell (cross head speed 120 mm/min). KSF was expressed as maximum load per gram of sample (N/g).

Instrumental texture analysis was conducted using a TA-XT2 Texture Analyser (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY). Measurement of samples was carried out at room temperature.

Surface colour

The surface colour (lightness, *L*; redness, *a* and yellowness *b*) of samples was evaluated by a HunterLab model D25-9 (D45/2°) (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA). Colour determinations were performed on the portions used for bind strength analysis immediately before the latter. Four pieces were measured per formulation and four determinations per piece.

Sensory evaluation

Samples from each formulation were randomly assigned for sensory evaluation. Slices were cut into pieces of uniform size and served warm (~ 45 °C) to a 10-member panel. The panel was selected in preliminary sessions from staff who had received training (two sessions) with the products and terminology. A description of attributes was discussed with the panel members. Panellists were asked to evaluate the samples on a non-structured scale (of 10 cm) without fixed extremes, with reference to flavour, texture, and overall acceptability. Each point marked was converted to a numerical value from 0 (dislike extremely) to 10 (like extremely) according to location. At the same time, panellists were asked to evaluate the off-flavour according to a scale on which 1 was none and 5 was very intense. Sensory evaluation was conducted under red light to minimize perceptions of colour caused by the different proportions of walnut. Four samples were presented to panellists per session.

Statistical analysis

Data were analysed using Statgraphics Plus 2.1 (STSC Inc., Rockville, MD) for two-way ANOVA. Least squares difference was used for comparison of mean values among treatments, and the Tukey' HSD test was used to identify significant differences ($P<0.05$) among main effects (grinding and walnut proportion).

Results and discussion

Proximate analysis and pH

No significant differences were found in raw product composition due to grinding type, and therefore the results described in Table 2 are means of both treatments. Addition of walnut did not affect ($P>0.05$) protein values but did produce an increase ($P<0.05$) of fat content and a decrease ($P<0.05$) of moisture. These results are consistent with the formulation of the product (Table 1). Restructured meats were very lean; in addition, their lipid profiles were improved from a health standpoint by the addition of walnut. The proportion of added walnut produced no significant differences in pH of finely-ground meat products (mean value 6.04±0.04) and coarsely-ground meat products (6.10±0.08).

Water and fat binding properties

Incorporation of walnut decreased exudate loss during heating ($P<0.05$) in both types of products (Fig. 1). This behaviour may be related to the decrease of moisture (and the increase of fat content) in products as more walnut was added (Table 2).

Meat particle size affected water and fat binding properties ($P<0.05$) (Fig. 1), so that finely ground products released a smaller proportion of exudate upon

Table 2 Proximate analysis (%) of raw samples. Means for products prepared from finely and coarsely ground meat. For sample denomination see Table 1. Different letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$). SEM=standard error of the mean

Samples	Moisture	Protein	Fat	Ash
W/0	75.3 ^a	19.7	1.4 ^a	2.7
W/5	71.6 ^b	19.8	4.4 ^b	2.6
W/10	68.3 ^c	19.3	6.5 ^c	2.8
W/15	64.1 ^d	19.5	8.1 ^d	2.8
SEM	0.17	0.15	0.10	0.07

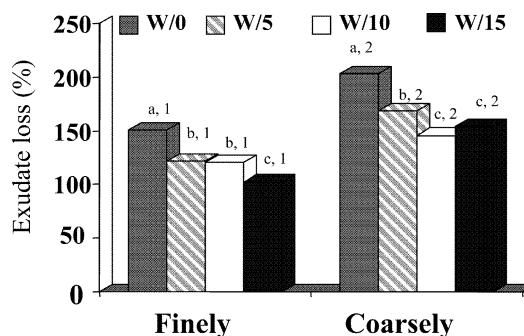


Fig. 1 Effect of added walnut on exudate loss (water and fat binding properties) of restructured beef prepared from finely and coarsely ground meat. Different letters for added walnut and different numbers for size particle indicate significant differences ($P<0.05$)

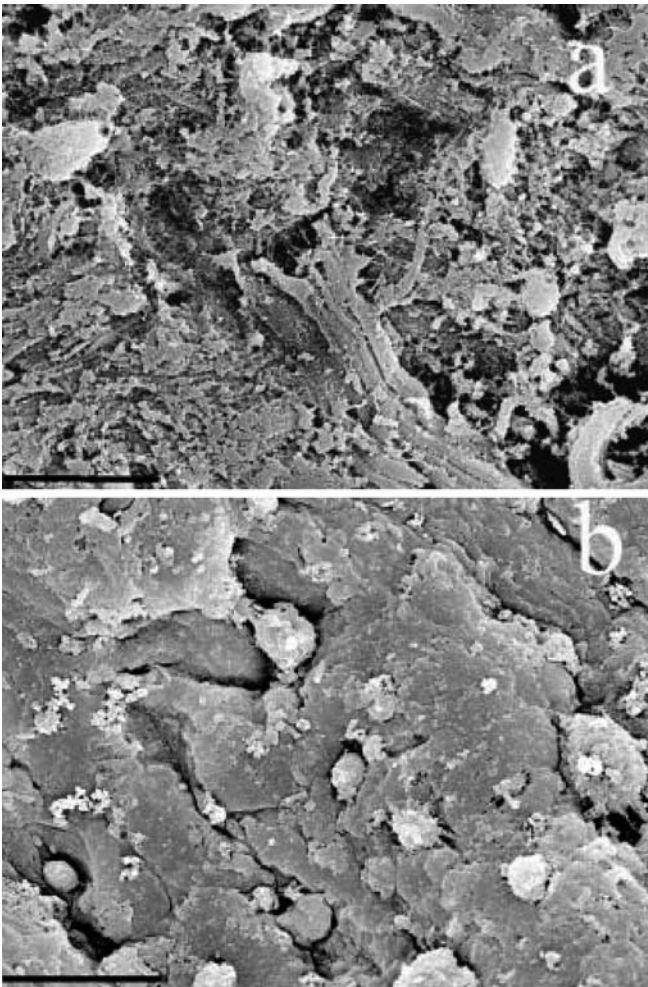


Fig. 2a–b Scanning electron micrographs of control (W/0, without added walnut) restructured beef prepared with: **a** finely ground meat, **b** coarsely ground meat. Bar, 30 μm

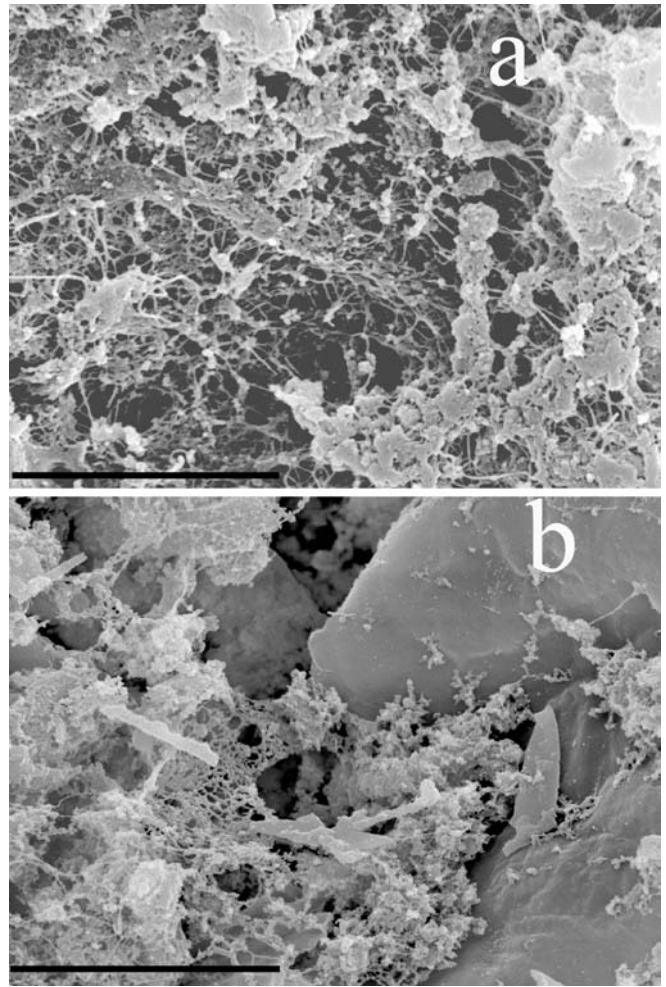


Fig. 3a–b Scanning electron micrographs of restructured beef prepared with finely ground meat: **a** control sample (W/0) without added walnut; **b** sample with 15% added walnut (W/15). Bar, 10 μm

heating. There were significant interactions between walnut addition and particle size. The smaller the particle size, the larger was the meat surface area and the higher the availability of myofibrillar protein [10] to bind water and fat in samples. This was associated with lower cooking loss [26]. Nonetheless, various studies showed no influence of particle size on cooking loss [10, 19, 20, 27] or water holding capacity [26].

Microstructure

In control samples (without walnut), fine grinding produced a more homogeneous and regular microstructure, with more protein network structures (Fig. 2a). Logically enough, the presence of meat pieces was more apparent in micrographs of coarsely ground products (Fig. 2b), where the protein network structure was less continuous and more dispersed and there was little sign of the network surrounding or connecting the pieces. The finer the particle size, the larger is the surface area

(greater availability of myofibrillar protein); combined with mechanical action (massaging) and the effect of salt and STP, this favours protein extractability in the form of a tacky exudate which forms a stable protein matrix upon cooking [17]. In the control samples (W/0) the surface of the restructured particles was covered by a dense, continuous protein network structure (Fig. 3a); in the presence of walnut, this structure exhibited some discontinuities (Fig. 3b). Greater adhesion between meat particles has been associated with continuous, dense protein network structures, but walnut appears to limit the formation of such structures [9] (Fig. 3b).

Textural properties

The type of grinding and the proportion of added walnut both influenced the textural properties of meat products ($P < 0.05$) (Table 3). Increasing amounts of walnut generally reduced ($P < 0.05$) KSF, bind and elongation values,

Table 3 Effects of added walnut on textural properties of restructured beef prepared from finely (F) and coarsely (C) ground meat. For sample denomination see Table 1. Different letters in the same column and different numbers in the same row indicate significant differences ($P<0.05$). SEM=standard error of the mean

Samples	Kramer shear force (N/g)		Binding strength (N)		Elongation (mm)	
	F	C	F	C	F	C
W/0	9.1 ₁ ^a	9.1 ₁ ^a	15.3 ₁ ^a	14.2 ₁ ^a	15.6 ₁ ^a	11.0 ₂ ^a
W/5	7.5 ₁ ^b	8.8 ₂ ^a	14.8 ₁ ^a	14.8 ₁ ^a	14.9 ₁ ^{ab}	11.4 ₂ ^a
W/10	6.4 ₁ ^c	7.2 ₁ ^b	10.2 ₁ ^b	9.6 ₁ ^b	12.5 ₁ ^b	7.8 ₂ ^b
W/15	5.6 ₁ ^c	7.3 ₂ ^b	7.1 ₁ ^c	4.0 ₁ ^c	12.4 ₁ ^b	6.2 ₂ ^c
SEM	0.25		0.76		0.74	

Table 4 Effects of added walnut on colour parameters of restructured beef prepared from finely and coarsely ground meat. For sample denomination see Table 1. Different letters in the same column and different numbers in the same row indicate significant differences ($P<0.05$). SEM=standard error of the mean

Samples	Lightness (<i>L</i>)		Redness (<i>a</i>)		Yellowness (<i>b</i>)	
	Finely	Coarsely	Finely	Coarsely	Finely	Coarsely
W/5	49.2 ₁ ^b	49.8 ₁ ^b	5.8 ₁ ^b	5.8 ₁ ^b	11.8 ₁ ^b	11.5 ₁ ^b
W/10	48.9 ₁ ^b	48.4 ₁ ^c	5.7 ₁ ^b	5.7 ₁ ^b	12.5 ₁ ^c	12.8 ₁ ^c
W/15	45.6 ₁ ^c	43.7 ₂ ^d	5.9 ₁ ^b	5.9 ₁ ^b	13.2 ₁ ^d	13.3 ₁ ^c
SEM	0.26		0.07		0.14	

indicating the formation of softer and less cohesive structures. Similar results have been reported for frozen beef steak with walnut [9]. The effect is attributed to a combination of several factors connected with increased fat and reduced water, to the diluting effect of walnut in meat protein systems, and to possible interferences (Fig. 3) in meat protein gelation processes [9, 28, 29], all of which can to some extent limit binding between meat pieces.

The particle size significantly affected KSF and elongation. In the presence of walnut (5 and 15%), KSF values were higher in products made with coarsely ground meat than in products made with finely ground meat ($P<0.05$) and elongation was less in samples made with coarsely ground meat in all cases ($P<0.05$) (Table 3). Information in the literature suggests that variations in size and shape of the particle influence textural properties of restructured meat. It has been reported that increases in muscle fragmentation created meat products with softer and more deformable structures [10, 20, 30, 31]. Nevertheless, there have been conflicting reports regarding meat particle and textural parameters in the restructuring process [10, 18, 19, 26], both when muscle fragmentation has been achieved by the same system and when other methods have been used. For instance, the size of the grinder plate holes (0.2, 0.4 and 0.8 cm) did not significantly affect the cook bind of restructured beef steak; at the same time 0.2 cm opening size had the lowest cook bind for the slicer and grinder but the 0.8 cm size had the lowest bind for the flaker [19]. Flake particle sizes (1.27, 0.69 and 0.30 cm) had no significant influence on the shear force of restructured pork [26]. Particle size (0.30, 0.61 and 0.99 cm) showed minimum effects on the shear value of restructured beef only [27]. Mechanical treatment (chunking, fiberizing, slicing or slicing+chunking) had no effect on binding force of restructured beef

steak [18]. A number of factors could have been involved in determining the effect of the particle size in this experiment. Smaller particle size means greater exposed surface. Combined with massaging and salt and STP, this augments the extractability of muscle protein, which gels during cooking; the result is a denser, more continuous protein matrix (Fig. 2) favourable to binding between meat particles [10]. Another important factor is the particle size in purely physical terms—that is, increased muscle fragmentation will logically result in softer textures. On the other hand, with augmented structural disintegration of the muscle, the greater exposure of meat constituents to added walnut and increased contact with it may interfere with the formation of gel network structures (Fig. 3) producing softer textures (Table 3). This is why the effect is greater in finely ground meat (KSF was significantly affected by interactions between walnut and particle size). In restructured beef, Nielsen et al. [23] reported interferences from some compounds in the mechanism of thermal gelation of meat protein, which were enhanced when the meat particle size was reduced.

Colour

Colour is one of the factors that determine acceptance of meat to consumers. The colour of meat products depends on various factors, including the concentration and chemical state of the meat pigment, physical characteristics of the meat and the presence of non-meat ingredients [21]. As the proportion of walnut was increased, there was a corresponding decrease ($P<0.05$) of lightness and increase ($P<0.05$) of yellowness (Table 4). Walnut increased ($P<0.05$) redness irrespective of the level added. Similar effects have been reported for restructured beef steak with added walnut [9]. The substitution of non-

Table 5 Effects of added walnut on sensory evaluation of restructured beef prepared from finely (F) and coarsely (C) ground meat. For sample denomination see Table 1. Flavour, texture and overall acceptability scale (0: dislike extremely and 10: like extremely).

Samples	Flavour		Off-flavour		Texture		Overall acceptability	
	F	C	F	C	F	C	F	C
W/0	4.5 ₁ ^a	5.8 ₁ ^{ab}	1.1 ₁ ^a	1.4 ₁ ^a	4.1 ₁ ^a	5.4 ₁ ^a	4.8 ₁ ^a	5.2 ₁ ^{ac}
W/5	5.8 ₁ ^{ab}	7.2 ₁ ^a	1.8 ₁ ^a	2.1 ₁ ^a	4.4 ₁ ^a	6.9 ₂ ^a	4.7 ₁ ^a	7.5 ₂
W/10	7.2 ₁ ^b	5.7 ₁ ^{ab}	3.0 ₁ ^b	3.2 ₁ ^b	6.9 ₁ ^b	5.8 ₁ ^a	7.5 ₁ ^b	5.6 ₁ ^{ab}
W/15	4.4 ₁ ^a	4.9 ₁ ^b	3.6 ₁ ^b	4.4 ₁ ^c	4.9 ₁ ^{ab}	2.5 ₂ ^b	4.8 ₁ ^a	3.4 ₁ ^c
SEM	0.51		0.21		0.60		0.57	

Off-flavour scale (1: none and 5: very intense). Different letters in the same column and different numbers in the same row indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM=standard error of the mean

meat ingredients for meat in the manufacture of meat products generally causes the dilution of meat pigment, which is normally associated with a reduction of redness [28]. In our experiment the observed colour changes (Table 4) were clearly produced by the walnut, which masked the dilution effect described.

Muscle fragmentation did not affect ($P > 0.05$) colour parameters of products, except for lightness in sample W/150 (Table 4). Significant interactions between walnut and particle size were found for lightness. Structural disintegration of the muscle, which augments the surface area exposed to oxygen, causes the meat to brown more readily than whole meat on cooking [32]. While this can affect the colour of cooked restructured meat, it has not been proven in all cases [21]. Mechanical treatment (chunking, fiberizing, slicing or slicing + chunking) has been found to have no effect on colour uniformity of cooked restructured beef steak [18]. There seem to be two basic barriers to clear determination of the effect of particle size on the colour of the final product: firstly, there is little available data, and secondly, there are numerous, subtly interrelated factors influencing the colour of cooked restructured meat [21].

Sensory evaluation

The proportion of added walnut and the type of grinding both influenced the sensory attributes of the products (Table 5). Generally speaking, both the control samples (W/0) and samples W/150 (15% of walnut) received quite similar scores for flavour, texture and overall acceptability. Although significant differences were not detected in all cases, the highest sensory scores were recorded for a walnut level of 10% in finely ground products and a level of 5% in coarsely ground products. Irrespective of the type of grinding, an increased proportion of walnut produced an increase ($P < 0.05$) in off-flavour (walnut-like). Except for off-flavour parameter, significant interactions between walnut and particle size were found for sensory parameters. Jiménez Colmenero et al. [9] reported that, while flavour, texture and overall acceptability scores of restructured beef steak were not statistically different from control, they did tend to increase along with walnut content. The difference in the effect of the

proportion of walnut on sensory attributes (except off-flavour) as just cited and in the present experiment may be related to the different processing methods used in either case, which do affect the sensory properties of this kind of meat product [33].

There have been conflicting reports regarding the influence of particle size on sensory evaluation of meat products. Mechanical treatment (chunking, fiberizing, slicing or slicing+chunking) did not affect sensory parameters (juiciness, bind, flavour and texture) of restructured steak formulated with salt and phosphate [18]. Springiness and juiciness were not affected by size of meat flake, while cohesiveness decreased with smaller size [20]. Particle size did not influence preferences for texture and overall acceptability [19]. Particle size (0.30, 0.61 and 0.99 cm) had minimum effects on sensory attributes of restructured beef [27]. Tenderness and overall acceptability of restructured pork [26] decreased as particle size increased (grinder plates of 0.64 and 0.95 cm). Berry et al. [21] reported that a grind size of 0.32 cm improved the tenderness of cooked beef patties as compared to patties made with a 0.40 cm plate.

Walnut affected the microstructure, colour, texture and sensory attributes of cooked restructured beef more than did the size of the meat particles. Generally speaking, the highest sensory scores were recorded for a walnut level of 10% in finely ground products and 5% in coarsely ground products. Our results indicate that cooked restructured beef with added walnut can be formulated with acceptable physicochemical and sensory properties. Additional studies are needed to address the use of walnut in meat products (work in progress). At the same time, the potential heart-healthy benefits conferred by walnut in such meat derivatives are currently being assessed in terms of bioavailability and their impact on intermediate cardiovascular risk markers in humans.

Acknowledgments This research was supported under projects AGL2001-2398-C03-01 and ALI99-1105, Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I), Ministerio de Ciencia y Tecnología. We wish to thank "La Morella Nuts, S. A." for supplying the walnuts.

References

1. Sabaté J (1993) *Eur J Clin Nutr* 47:S71–S75
2. Iwamoto M, Sato M, Kono M, Hirooka Y, Sakai K, Takeshita A, Imaiuzumi K (2000) *J Nutr* 130:171–176
3. Zambón D, Sabaté J, Muñoz S, Campero B, Casals E, Merlos M, Laguna JC, Ros E (2000) *Ann Int Med* 132:538–546
4. Ravai M (1995) *Nutr Today*, 30:173–173
5. Mattson FH, Grundy SM (1985) *J Lipid Res* 26:194–202
6. Anderson JW (1987) *Am J Cardiol* 60:17G-22G
7. Anderson KJ, Teuber SS, Gobeille A, Cremin P, Waterhouse AL, Steinberg FM (2001) *J Nutr* 131:2837–2842
8. Diehl JF (2002) The stage is set for nutrition message in Europe. International Tree Nut Council, Inc.http://inc.treenuts.org/art_apr01_2.html
9. Jiménez Colmenero F, Serrano A, Ayo, J, Solas MT, Cofrades S, Carballo J (2003) *Meat Sci* 65:1391–1397
10. Mandigo RW (1988) Restructured meats. In Lawrie R (ed) *Developments in meat science-4*. Elsevier, New York, pp 297–315
11. Jiménez Colmenero F, Carballo J, Cofrades S (2001) *Meat Sci* 59:5–13
12. Kim JS, Godber JS, Prinaywiwatkul W (2000) *J Muscle Foods* 11:111–127
13. Lee BJ, Hendricks DG, Cornforth DP (1998) *Meat Sci* 50:273–283
14. Tsai SJ, Unklesbay N, Unklesbay K, Clarke A (1998) *J Food Qual* 21:397–410
15. Miles RS, McKeith FK, Bechtel PJ, Novakofski J (1986) *J Food Prot* 49:222–225
16. Saleh NT, Ahmed ZS (1998) *Meat Sci* 50:285–293
17. Booren AM and Mandigo RW (1987) Fundamentals of production. In Pearson AM, Dutson RT (eds) *Restructured meat and poultry products, advance in meat research, vol 3*. Van Nostrand, New York, pp 351–382
18. Raharjo S, Dexter DR, Worfel RC, Sofos JN, Solomon MB, Shults GW, Schmidt GR (1995) *J Food Sci* 60:68–71
19. Boles JA, Shand PJ (1998) *Meat Sci* 49:297–307
20. Berry BW, Smith JJ, Secrit JL (1987) *J Food Sci* 52:558–563
21. Hunt MC, Kropf DH (1987) Color and appearance. In Pearson AM, Dutson RT (eds) *Restructured meat and poultry products, advance in meat research, vol 3*. Van Nostrand, New York, pp 125–159
22. Berry BW, Bigner-George ME, Eastridge JS (1999) *Meat Sci* 53:37–43
23. Nielsen HT, Hoegh L, Moller AJ (1996) *J Muscle Foods* 7:413–424
24. AOAC. (1984). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC
25. Field RA, Williams JC, Prasad VS, Cross HR, Secrit JL, Brewer MS (1984) *J Text Stud* 15:173–178
26. Chesney MS, Mandigo RW, Campbell JF (1978) *J. Food Sci* 43:1535–1537
27. Marriott NG, Phelps SK, Costello C, Graham PP (1986) *J. Food Qual* 9:319–330
28. Rocha-Garza AE, Zayas JF (1996) *J Food Sci* 61:418–421
29. Farouk MM, Hall WK, Swan JE (2000) *J Muscle Foods* 11:197–212
30. Berry BW (1987) Texture in restructured meats. In Pearson AM, Dutson RT (eds) *Restructured meat and poultry products, advance in meat research, vol 3*. Van Nostrand, New York, pp 271–305
31. Reagan JO, Liou FH, Reynolds AE, Carpenter JA (1983) *J Food Sci* 48:146–149, 162
32. Young OA and West J (2001) Meat color. In Hui YH, Nip W-K, Rogers RW, Young OA (eds) *Meat science and applications*. Marcel Dekker, New York, pp 39–69
33. Noble JM, MacMahon PS, Seman DL, Moody WG, Douglass LW (1990) *J Food Sci* 55:658–660, 773

Capítulo I.3

Transglutaminasa como agente ligante de filetes reestructurados frescos de vacuno con nuez incorporada.

“Transglutaminase as binding agent in fresh restructured beef steak with added walnuts”.

Este capítulo corresponde a una publicación de la revista *Food Chemistry*, 85 (2004): 423-429.

Transglutaminase as binding agent in fresh restructured beef steak with added walnuts

A. Serrano, S. Cofrades, F. Jiménez Colmenero*

Instituto del Frío (CSIC). C/José Antonio Novais, 10. Ciudad Universitaria, 28040, Madrid, Spain

Received 25 April 2003; received in revised form 21 July 2003; accepted 21 July 2003

Abstract

Restructured beef steaks with added walnuts (0, 10 and 20%) and salts (2% NaCl and 0.3% sodium tripolyphosphate), were prepared, using microbial transglutaminase (MTG) (0.7%)/sodium caseinate (3%) as cold-set binder, and stored in chilling conditions (6 days at 3 °C). Restructured beef steak with walnuts presented acceptable sensory characteristics. Addition of both walnuts and salts reduced the total loss (sum of purge and cooking losses), which increased ($P < 0.05$) during storage. Added walnut reduced ($P < 0.05$) binding strength of uncooked and cooked products. With MTG, the restructured beef steaks presented suitable mechanical characteristics (meat particle binding) for handling in the raw state. However, other means need to be used, along with MTG, to induce the protein–water interactions required for suitable water and binding properties in fresh and cooked products.

© 2003 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Restructured; Beef steak; Transglutaminase; Walnut; Chilling storage

1. Introduction

Cardiovascular diseases are the principal cause of death in developed countries, and diet is one of the major factors in their incidence. Epidemiological studies show that frequent consumption of nuts in general, and walnuts in particular, correlates inversely with myocardial infarction or death by vascular ischaemic disease, regardless of other risk factors, such as age, sex, smoking, hypertension, weight and exercise (Fraser, Sabaté, Beeson, & Strahan, 1992; Iwamoto et al., 2000; Sabaté, 1993). This effect has been associated with the peculiar blend of nutrients and phytochemical compounds found in walnuts: high-biological-value proteins, vegetable fibre, polyunsaturated (linoleic and linolenic) fatty acids and micronutrients, such as folic acid, magnesium, liposoluble vitamins (especially γ -tocopherol), and other antioxidants (phytosterols and polyphenols). All these combine in complex ways to exert beneficial effects on serum lipid profiles and other risk factors that can cause or exacerbate cardiovascular diseases.

Restructured meats offer many major advantages for consumers and for the meat industry. Experiments using conventional meat restructuring systems (including NaCl and phosphate) with added walnuts to make restructured beef steak (precooked and frozen) have resulted in products with acceptable physicochemical and sensory properties (Cofrades, Serrano, Ayo, Solas, Carballo, & Jiménez Colmenero, in press; Jiménez Colmenero, Serrano, Ayo, Solas, Cofrades, & Carballo, in press). Such kinds of meat products can only be marketed either precooked or frozen because the product bind is not very strong in the raw state. However, consumers tend to appreciate these less than fresh meat products, and they therefore need to be suitable for raw handling in the chilled state (Kuraishi, Sakamoto, Yamazani, Susa, Kuhara, & Soeda, 1997; Wijngaards & Paardekooper, 1988).

The use of transglutaminase has been described as a procedure for cold gelification of muscle protein which can reduce or eliminate the need to add NaCl and phosphate (Kuraishi et al., 1997; Nielsen, Petersen, & Moller, 1995; Wijngaards & Paardekooper, 1988). Because of the potential health benefits, there is growing interest among consumers and processors in reducing the use of NaCl in meat processing. Kuraishi et al.

* Corresponding author. Fax: +34-91-549-36-27.

E-mail address: fjimenez@if.csic.es (F. Jiménez Colmenero).

(1997) reported that a microbial transglutaminase (MTG)/sodium caseinate (C) system (0.05–0.1% MTG/0.5–1% C) could be usefully employed as a meat binder at low temperature (5 °C). With this system, transglutaminase could serve as a real cold-set binder to produce restructured meat in the raw, refrigerated state without addition of NaCl. However, this study reported no data on how this treatment might affect important product characteristics, such as water-binding properties in the raw state and water-binding and textural properties of cooked muscle food.

For practical application, the effect of a MTG/C system on restructured meat prepared for distribution as a chilled product has to be assessed over several days to reflect real commercial conditions. However, there are hardly any studies on how the time in chilled storage can affect the characteristics of raw and cooked meat systems prepared with MTG as a cold-set binder (Carballo, Ayo, & Jiménez Colmenero, submitted for publication). Carballo et al. reported changes in characteristics during chilling storage of finely comminuted meat batter (from different meat species) prepared with MTG. However, no information is available on other studies that provide data on the behaviour of fresh restructured steak treated with MTG/G (and processed at less than 10 °C) after several days in chilled storage.

One purpose of this experiment was to ascertain how use of a TGM/C system as a cold-set binder affected the characteristics of restructured beef steak with different concentrations of walnut (0, 10 and 20%). Another was to determine the influence of chilling storage (6 days at 3 °C) on the properties of these meat products. The parameters measured to determine the effect of the treatment were the sensory, colour and water/fat and meat particle binding properties of raw and cooked products.

2. Materials and methods

2.1. Meat preparation and additives

Select beef top rounds (15 kg) were trimmed of fat and connective tissue and cut into strips (approx. 5×4×20 cm). Lots of approx. 1.2 kg, were vacuum-packed, frozen to –20 °C and stored at that temperature until used.

The following additives were used for preparation of restructured beef: sodium caseinate (Anvisa, Arganda del Rey, Madrid, Spain), microbial transglutaminase (Activa WM, Ajinomoto Co, Inc, Kawasaki, Japan), sodium chloride (Panreac Quimica, S.A. Barcelona, Spain) and sodium tripolyphosphate (STP) (Panreac Quimica, S.A. Barcelona, Spain). Walnut, ground down to a particle size of <0.8 mm, was supplied by Bernardo Josa Quilez, (Valencia, Spain).

2.2. Products preparation

For the preparation of restructured beef steak, meat packages were thawed (approx. 18 h 3±2 °C, reaching between –3 and –5 °C) and passed once through a grinder (Mainca, Granollers, Spain) with a 2-cm plate. Four different products were formulated (Table 1). The procedure was as follows: meat was mixed for 1 min in a mixer (Mainca, Granollers, Spain); half of the water (with salt and STP as appropriate) was added and the whole mixed again for 1 min; sodium caseinate was sprinkled on and the whole mixed again for 2 min. Transglutaminase was dissolved in the other half of the water with an Omnimixer (Omni International, Waterbury, CT USA); this solution was added to the first and the whole mixed again for 2 min. Finally, walnut was added and the whole mixed again for 2 min. Mixing time was standardized at 8 min.

Each batch was placed in metal moulds (1.25 kg) and stored at 3 °C overnight, to allow MTG action. Metal moulds were kept at –18 °C until the samples were solid enough to be sliced (Mainca, Granollers, Spain) into steaks (140 g±3; 1.0 cm±0.05 thick). Each steak was weighed, vacuum packed and stored at 3 °C. Evaluations were performed initially (16–18 h after packaging), and at 2 and 6 days.

2.3. Proximate analysis and pH

Moisture and ash contents of the raw samples were determined (AOAC, 1984) in quadruplicate. Fat content was evaluated (in duplicate) according to Bligh and Dyer (1959). Protein content was measured in quadruplicate by a Nitrogen Determinator LECO FP-2000 (Leco Corporation, St. Joseph, MI). The pH of the raw products was determined in duplicate using a pH meter (Radiometer PHM 93, Copenhagen, Denmark) on a homogenate of a 10 g sample in 100 ml distilled water.

2.4. Sensory evaluation

Samples from each formulation were randomly assigned for sensory evaluation. Steaks were cooked in a forced air oven (Rational CM6, Großküchentechnik GmbH, Landsberg a. Lech) (at 170 °C during 10 min) to a core 70 °C determined beforehand by inserting thermocouples, which were connected to a temperature recorder (Yokogawa Hokushin Electric YEW, model 3087, Tokyo, Japan). Slices were cut into uniform sized pieces and served warm (~45 °C) to a 10 member panel. Panellists were selected from among staff in a preliminary session, then trained with the products and terminology. A description of attributes was discussed with the panel members. Panellists were asked to evaluate the samples on a non-structured scale (of 10 cm) without fixed extremes, with reference to the following

Table 1
Formulation of different restructured beef steaks^a

Samples	Beef (g)	NaCl (g)+ STP (g)	Walnut (g)	Water (g)	MTG (g)	Caseinate (g)	Total (g)
NS/0	3452	0	0	400	28	120	4000
NS/10	3052	0	400	400	28	120	4000
NS/20	2652	0	800	400	28	120	4000
S/10	2960	80+12	400	400	28	120	4000

^a STP, sodium tripolyphosphate; MTG, microbial transglutaminase. The first term in each sample denomination indicates: NS, salt-free products; S, product prepared with added salts (NaCl and STP). The second indicates added walnuts (%).

parameters: flavour, texture, and overall acceptability. Each point marked was converted to a numerical value from 0 (dislike extremely) to 10 (like extremely) according to location. At the same time panellists were asked to evaluate the off-flavour according to the following scale: 1 (none) and 5 (intense). Sensory evaluation was conducted under red light to minimize perceptions of colour caused by the different proportions of walnut. Each panellist tasted three samples per session.

2.5. Surface colour

Surface colour (lightness, *L*; redness, *a* and yellowness, *b*) of raw restructured beef steaks was evaluated on a HunterLab model D25-9 (D45/2°) (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA). Colour determinations were performed immediately before bind strength analysis on the beef steaks, whole and 20 min after the packages were opened. Determinations were performed on three steaks per formulation; there were six determinations per steak (three on either surface of the steak).

2.6. Purge loss, cooking loss and total loss

Three restructured beef steaks from each formulation were removed each time (initial, 2 and 6 days) from their vacuum packages and after 15 min were manually wiped with a paper towel to remove visible exudate. Purge loss (PL) was calculated as weight loss divided by original weight (before packaging), expressed as a percentage.

These three restructured beef steaks were cooked in a forced air oven (Rational CM6, Großküchentechnik GmbH, Landsberg a. Lech) (at 170 °C during 10 min) to a core 70 °C determined beforehand by inserting thermocouples, which were connected to a temperature recorder (Yokogawa Hokushin Electric YEW, model 3087, Tokyo, Japan). After 30 min at room temperature (20–22 °C), steaks were manually wiped with a paper towel to remove visible exudate. Cooking loss (CL) was calculated as weight loss divided by original weight (before packaging), expressed as a percentage. Total loss (TL) was calculated as the sum of purge and

cooking loss. These parameters reflect water- and fat-binding properties of the samples.

2.7. Binding strength

Portions were prepared from three raw restructured beef steaks per formulation. Six portions (5×5×1 cm) were obtained per formulation to assess the ability of the meat pieces to adhere to one another (bind strength), in a procedure similar to that of Field, Williams, Prasad, Cross, Secrit, and Brewer (1984). The bind strength (BS) was measured as the peak force (N) required for a 1.9 cm ball, at a cross head speed of 100 mm/min (in a 500 N load cell), to break through a meat slice mounted on a ring of 3.2 cm inner diameter.

Similar instrumental texture analyses were carried out on identical cooked portions cut from restructured steaks used to determine cooking loss. Instrumental texture analysis was conducted using a TA-XT2 Texture Analyser (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY). Raw samples and cooked samples were measured at room temperature.

2.8. Statistical analysis

Data were analysed using Statgraphics 2.1 (STSC Inc., Rockville, MD) for one- and two-way ANOVA. The least squares difference method was used to compare mean values among treatments and the Tukey HSD test was used to identify significant differences ($P < 0.05$) among main effects (walnut proportion and time of storage).

3. Results and discussion

3.1. Proximate analysis and pH

The proportion of added walnut significantly affected the proximate analysis of restructured beef steak (Table 2). Addition of walnut gradually increased ($P < 0.05$) fat values and reduced ($P < 0.05$) moisture and protein values (Table 2). The proportion of ash in

S/10 samples was greater, due to the addition of salts. These results are consistent with meat product formulations (Table 1) where meat was replaced by walnut. Both non-meat ingredients (walnut and salts) increased ($P < 0.05$) pH of meat products (Table 2). Jiménez Colmenero et al. (2003) reported no effect of walnut on pH.

3.2. Sensory analysis

Sensory evaluation indicated that walnut significantly affected the sensory quality of restructured steak (Table 3). The panel were able to detect the addition of walnut as a slight off-flavour (walnut-like) which was

Table 2
Proximate analysis (%) and pH of raw restructured beef steaks^a

Samples	Moisture	Protein	Fat	Ash	pH
NS/0	74.0a	22.2a	2.2a	1.0a	5.7a
NS/10	67.7b	20.8b	8.3b	1.2b	5.9b
NS/20	60.8c	19.2c	13.6c	1.1ab	6.0c
S/10	66.6d	20.7b	8.3b	3.5c	6.1d
SEM	0.17	0.13	0.28	0.03	0.01

^a For sample denomination see Table 1. Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean.

Table 3
Sensorial analysis of restructured beef steaks^a

Samples	Flavour	Off-flavour	Texture	Overall acceptability
NS/0	2.4a	1.1a	2.3a	1.9a
NS/10	6.2b	2.3b	6.5b	6.2b
NS/20	5.4b	3.8c	5.7b	5.7b
S/10	5.5b	2.7b	4.2b	5.3b
SEM	0.56	0.21	0.58	0.61

^a For sample denomination see Table 1. Different numbers in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean. Flavour, texture and overall acceptability scale (0: dislike extremely and 10: like extremely). Off-flavour scale (1: none and 5: intense).

Table 4
Colour parameters of raw restructured beef steaks^a

	Lightness (<i>L</i>)			Redness (<i>a</i>)			Yellowness (<i>b</i>)		
	Days in storage (3 °C)			Days in storage (3 °C)			Days in storage (3 °C)		
	Initial	2	6	Initial	2	6	Initial	2	6
NS/0	40.65a14	40.13a1	38.71b12	8.92a1	11.62b1	17.46c1	11.73a1	11.42a1	14.66b1
NS/10	44.10a2	43.19a2	39.44b1	8.38a12	12.68b2	11.81b2	13.32a2	13.54a2	14.25b1
NS/20	45.20a3	45.33a3	39.42b1	7.78a2	10.52b3	11.47c2	14.39a3	14.47a3	14.34a1
S/10	41.10a4	41.69a4	38.23b2	12.94a3	7.07b4	11.25c2	13.49a2	12.84a4	12.85a2
SEM		0.26			0.23			0.17	

^a For sample denomination see Table 1. Different letters in the same row and different number in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean.

more noticeable ($P < 0.05$) the higher the percentage of added walnut. The panel viewed this positively since the flavour, texture and overall acceptability scores were higher than the control. (Table 3). Similar results have been reported by Jiménez Colmenero et al. (2003). The presence of salts (NS/10 versus S/10) produced no appreciable change in the sensory evaluation. It was concluded that restructuring with walnuts produced acceptable sensory characteristics.

3.3. Surface colour

Addition of walnut produced an increase ($P < 0.05$) of *L* and *b* and *a* decrease ($P < 0.05$) of redness (Table 4). Similar results have been reported by Jiménez Colmenero et al. (2003). In general, salts decreased lightness and increased redness (Table 4). Trout, Chen, and Dale (1990) reported that the presence of NaCl and STP did not affect *L*, *a* and *b* values of restructured pork chops.

Storage time decreased lightness and increased redness, except in the case of the S/10 sample (Table 4). While yellowness of NS/0 and NS/10 samples had increased ($P < 0.05$) by day 6 of storage, NS/20 and S/10 were unaffected ($P > 0.05$) by refrigerated storage. Other authors (Boles & Shand, 1999; Bradford, Huffman, Egbert, & Jones, 1993) have reported that refrigerated storage of fresh pork sausage patties or restructured beef resulted in decreased lightness, redness and yellowness, although this effect was attributed to extended exposure of products to retail lighting conditions.

3.4. Purge loss, cooking loss and total loss

The presence of walnut reduced ($P < 0.05$) purge loss in restructured products over the entire storage period (Table 5). At the outset of storage, purge loss was five times greater in samples without walnut (NS/0) than in samples with 20% walnut (NS/20). Purge loss increased ($P < 0.05$) during chilling storage, and after 6 days the difference attributable to walnut was smaller (Table 5). Purge loss (<1%) was smallest ($P < 0.05$) when salts

Table 5
Water- and fat-binding properties of restructured beef steaks^a

	Purge loss (%)			Cooking loss (%)			Total loss (%)		
	Days of storage (3 °C)			Days of storage (3 °C)			Days of storage (3 °C)		
	Initial	2	6	Initial	2	6	Initial	2	6
NS/0	11.98a1	13.22a1	15.72b1	23.94a1	25.53a1	25.06a1	35.93a1	38.76 ^{ab} 1	40.78b1
NS/10	5.96a2	6.04a2	10.39b2	21.42a1	21.11a2	20.95a2	27.39a2	27.16a2	31.35b2
NS/20	2.43a3	2.29a3	7.48b3	16.63a2	17.02a3	16.79a3	19.06a3	19.33a3	23.27b3
S/10	0.52a4	0.51a4	0.70a4	8.27a3	10.13a4	9.98a4	8.79a4	10.64a4	10.68a4
SEM	0.41			0.76			0.81		

^a For sample denomination see Table 1. Different letters in the same row and different numbers in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean.

were added (NS/10 versus S/10), and purge loss values remained stable ($P > 0.05$) throughout storage (Table 5). Devatkal and Mendiratta (2001) reported up to 10% moisture loss in refrigerated restructured pork rolls (15 days at 4 °C). Fluid accumulation during chilled retail storage is one of the main problems with fresh marketed products as it not only makes the product look unpleasant to the consumer but it can also favour growth of microorganisms. There is little information available on restructured beef steak, but levels around 3.5–4.5%, which have been found in other commercially available meat products, tend to spoil their appearance (López-Caballero, Carballo, & Jiménez Colmenero, 1999).

Addition of walnut generally reduced ($P < 0.05$) cooking loss (Table 5), which was unaffected ($P > 0.05$) by chilling storage, irrespective of the treatment. As in the case of purge loss, cooking loss was lower in products containing salts at all stages of the experiment (Table 5). The total loss (PL + CL), directly related to PL, decreased ($P < 0.05$) in the presence of walnut and increased ($P < 0.05$) during storage. Water- and fat-binding properties observed in this experiment (8–40%) are comparable to those reported in similar products (Boles & Shand, 1999; Chen & Trout, 1991; Sheard, Nute, & Chappel, 1998) with reference to a number of different variables (e.g. composition, additives, cooking methods, oven temperature and sample dimensions).

The effect of walnut on these properties may be related to the relative moisture in the samples (Table 2). Our results show that when MTG/C (no salts) was used, the meat products exhibited less water- and fat-binding ability (total loss 35–40%) (Table 5). Various studies have shown that the use of MTG (without salts) can result in meat products with poor water-binding properties. O'Kennedy (2000) reported that the inclusion of MTG alone in a pork meat dispersion had no effect on cooking loss, but when added with sodium caseinate it led to a decrease in cooking loss (40 to 27%). Kerry, O'Donnell, Brown, Kerry, and Buckley (1999) found that the presence of MTG had no influence on high

cooking loss (40%) in comminuted poultry products. Meat batters (pork and beef) with MTG/C presented higher cooking loss than meat batters containing salts; cooking loss increased in samples with MTG during chilling storage (Carballo et al., submitted for publication).

The good water-binding properties of the S/10 sample (Table 5) were to be expected since NaCl and STP solubilize meat proteins, which subsequently gel on heating and immobilize water. However, there is some disagreement in the literature as to how the addition of MTG influences the effect of the salts on water-binding (Carballo et al., submitted for publication). The presence of MTG has been reported to have no influence (Kilic, 2003; Pietrasik & Jarmoluk, 2003), to enhance (Kuraishi, Sakamoto, & Soeda, 1996; Pietrasik & Li-Chan, 2002; Tseng, Liu, & Chen, 2000) or to decrease (Carballo et al., submitted for publication; Kuraishi et al., 1996; O'Kennedy, 2000) the effect of salt on water-binding properties of muscle-based products. The effect of MTG on water-binding properties depends on the level and type of MTG used and the conditions in which it is used (e.g. reaction temperature and time, meat particle size and disruption methods, presence of other ingredients and meat source).

Our results suggest that other means need to be used, along with MTG, to induce the protein–water interactions required for suitable water and binding properties in fresh and cooked products. In the present experiment this was achieved by the addition of large amounts of walnut, but most importantly by the addition of salts.

3.5. Binding strength

In salt-free samples, added walnut reduced ($P < 0.05$) the binding strength of raw restructured steak (Table 6). Jiménez Colmenero et al. (2003) earlier reported that walnut had no effect on uncooked restructured meat; however, this apparent discrepancy may have been due to the fact that neither the walnut used, nor the gelation process followed to manufacture the products, were the

same in this experiment. A comparison of the samples with 10% walnut (NS/10 and S/10) shows that meat particle binding increased ($P < 0.05$) in the presence of salts. Chilling storage favoured ($P < 0.05$) higher BS in all cases. Increases in penetration force during chilling storage of fresh meat batters (from different species) prepared with MTG as cold-binder agent have likewise been reported (Carballo et al., submitted for publication). Irrespective of treatment, the formulated fresh meat products presented structures suitable for handling in the raw state. Cooking increased the bind strength of restructured meats. The effects of walnut, salts and chilling storage on BS were similar to those recorded for fresh products (Table 6). A decrease in BS with the addition of walnut to cooked restructured steak has been reported elsewhere (Jiménez Colmenero et al., 2003).

The effect of adding walnut on meat particle binding has been associated with a number of factors (Jiménez Colmenero et al., 2003). Increasing fat content (in proportion to walnut concentration) produces softer textures in restructured beef steak (Penfield, Costello, McNeil, & Riemann, 1988). Addition of ingredients also reduces the proportion of water available to form a gel matrix between meat pieces, which could again limit the binding process (Farouk, Hall, & Swan, 2000). Various authors have reported that the addition of some ingredients to meat products produced structures that were less rigid and more easily broken. This behaviour was attributed primarily to the dilution effect of non-meat ingredients in meat protein systems (Rocha-Garza & Zayas, 1996; Tsai, Unklesbay, Unklesbay, & Clarke, 1998) or to their ability to reduce friction and/or binding among meat particles (Saleh & Ahmed, 1998); or again, in relation to cooking yield, it has been suggested that less cooking loss (total loss in this case) makes for products that are less rigid and more easily broken apart during binding valuations (Shao, Avens, Schmidt, & Maga, 1999).

Salt-induced protein solubilization may influence the BS of restructured meats in two ways: directly through the thermal gelation process and indirectly through the action of MTG. Salt has been reported to have a posi-

tive effect on the cold-set binding capacity of MTG (S/10 versus NS/10) (Table 6) in uncooked and cooked restructured meats (Carballo et al., submitted for publication; Kuraishi et al., 1997; Tseng et al., 2000). This behaviour has been attributed to the fact that NaCl and STP promote the extraction of myofibrillar proteins, which in turn act as a binding agent and make a good substrate for crosslinking reactions by MTG (Kuraishi et al., 1997) leading to better meat particle binding (Table 6).

There are several factors that can help to explain increasing BS during storage (Table 6). Total weight loss (purge and cooking loss) of restructured meats increased in the course of storage (Table 5), and in such cases the products are generally more difficult to break apart during binding evaluation (Shao et al., 1999). However, this does not seem sufficient to account for the changes in texture of sample S/10. The persistence of residual MTG activity after 24 h would presumably generate additional crosslinking reactions and hence greater binding of meat particles (Carballo et al., submitted for publication). In most available studies, the MTG was allowed to act (reaction times vary from a few hours to around 24 h) and the product was cooked before analysis (Chen, Chou, & Liu, 1998; Kilic, 2003; Pietrasik, 2003; Pietrasik & Li-Chan, 2002; Ruiz-Carrascal & Regenstein, 2002). We therefore have no information on other studies that provide data on the behaviour of fresh meat products treated with MTG (and processed at less than 10 °C) after several days in chilled storage.

Incorporation of nuts in meat products can be used to confer potential heart-healthy benefits (Spanish Patent Application 200300367). Restructured beef steak with walnut presented acceptable sensory characteristics. When MTG was used as a cold-binder agent in restructured beef steaks, the products were mechanically suitable (meat particle binding) for handling in the raw state but, when used in fresh and cooked products, water and binding properties were inadequate. Other means are therefore required to improve these properties, including the addition of non-meat ingredients such as walnuts, and more importantly salts.

Table 6
Binding strength (N) of raw and cooked restructured beef steaks^a

Samples	Raw			Cooked		
	Days in storage (3 °C)			Days in storage (3 °C)		
	Initial	2	6	Initial	2	6
NS/0	4.70a1	6.34b1	8.41c1	20.61ab1	17.53a1	24.06b1
NS/10	3.26a2	4.08ab2	4.50b2	13.21a2	15.93a1	19.87b2
NS/20	2.39a2	2.89ab3	3.49b2	8.71a3	10.42 ^a b2	13.65b3
S/10	4.70a1	8.60b4	7.58b1	23.87a1	26.52a3	31.37b4
SEM		0.26			0.91	

^a For sample denomination see Table 1. Different letters in the same row and different numbers in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean.

Acknowledgements

This research was supported under project AGL2001-2398-C03-01, Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I), Ministerio de Ciencia y Tecnología. Thanks are due to Bernardo Josa Quilez for supplying the walnuts.

References

- AOAC. (1984). *Official methods of analysis* (14th ed). Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extractions and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, *37*, 911–917.
- Boles, J. A., & Shand, P. J. (1999). Effects of raw binder system, meat cut and prior freezing on restructured beef. *Meat Science*, *53*(4), 233–239.
- Bradford, D. D., Huffman, D. L., Egbert, W. R., & Jones, W. R. (1993). Low-fat fresh pork sausage patty stability in refrigerated storage with potassium lactate. *Journal of Food Science*, *58*(3), 488–491.
- Carballo, J., Ayo, J., & Jiménez Colmenero, F. Microbial transglutaminase/caseinate systems as a cold set binders in different meat species. *Meat Science* (submitted for publication).
- Chen, C. M., & Trout, G. R. (1991). Sensory, instrumental texture profile, and cooking properties of restructured beef steaks made with various binders. *Journal of Food Science*, *56*(6), 1457–1460.
- Chen, M. T., Chou, S. J., & Liu, D. C. (1998). Effect of transglutaminase of chicken liver from different steps of purification on the physical properties of gel from chicken surimi. In *Proceedings 44th International Congress of Meat Science and Technology* (pp. 528–529), 30 August–4 September, Barcelona, Spain.
- Cofrades, S., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Carballo, J., & Jiménez Colmenero, F. Restructured beef with different proportions of walnut as affected by meat particle size. *European Food Research and Technology* in press.
- Devatkal, S., & Mendiratta, S. K. (2001). Use of calcium lactate with salt-phosphate and alginate-calcium gels in restructured pork rolls. *Meat Science*, *58*(4), 371–379.
- Farouk, M. M., Hall, W. K., & Swan, J. E. (2000). Attributes of beef sausages, batters, patties and restructured roasts from two boning systems. *Journal of Muscle Foods*, *11*(3), 197–212.
- Fraser, G. E., Sabaté, J., Beeson, W. L., & Strahan, T. M. (1992). A possible protective effect of nut consumption on risk of coronary heart disease. *Archives of Internal Medicine*, *152*(7), 1416–1424.
- Field, R. A., Williams, J. C., Prasad, V. S., Cross, H. R., Secrit, J. L., & Brewer, M. S. (1984). An objective measurement for evaluation of bind in restructured lamb roasts. *Journal of Texture Studies*, *15*(2), 173–178.
- Iwamoto, M., Sato, M., Kono, M., Hirooka, Y., Sakai, K., Takeshita, A., & Imaiuzumi, K. (2000). Walnuts lower serum cholesterol in Japanese men and women. *Journal of Nutrition*, *130*(2), 171–176.
- Jiménez Colmenero, F., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Cofrades, S., & Carballo, J. (2003). Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science*, *65*, 1391–1397.
- Kerry, J. K., O'Donnell, A., Brown, H., Kerry, J. P., & Buckley, D. J. (1999). Optimization of transglutaminase as a cold set binder in low-salt beef and poultry comminuted meat products using response surface methodology. In *Proceedings 45th International Congress of Meat Science and Technology* (pp. 140–141). 1–6 August, Yokohama, Japan.
- Kilic, B. (2003). Effect of microbial transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken döner kebab. *Meat Science*, *63*(3), 417–421.
- Kuraishi, C., Sakamoto, J., & Soeda, T. (1996). The usefulness of transglutaminase for food processing. In G. R. Takeoka, R. Teranishi, P. J. Williams, & A. Kobayashi (Eds.), *Biotechnology for improved food and flavors* (pp. 29–38). Washington DC: ACS (ACS Symposium Series 637).
- Kuraishi, C., Sakamoto, J., Yamazaki, K., Susa, Y., Kuhara, C., & Soeda, T. (1997). Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking. *Journal of Food Science*, *62*(3), 488–490, 515.
- López-Caballero, M. E., Carballo, J., & Jiménez Colmenero, F. (1999). Microbiological changes in pressurized, prepackaged sliced cooked ham. *Journal of Food Protection*, *62*(12), 1411–1415.
- Nielsen, G. S., Petersen, B. R., & Møller, A. J. (1995). Impact of salt, phosphate and temperature on the effect of a transglutaminase (FXIIa) on the texture of restructured meat. *Meat Science*, *41*(3), 293–299.
- O'Kennedy, B. (2000). Use of novel dairy ingredients in processed meats. In *End of the project report 1999: DPRC No. 15*. Teagasc, Dublin, Ireland: Dairy Products Research Centre.
- Penfield, M. P., Costello, C. A., McNeil, M. A., & Riemann, M. J. (1988). Effects of fat level and cooking methods on physical and sensory characteristics of restructured beef steaks. *Journal of Food Quality*, *11*(5), 349–356.
- Pietrasik, Z. (2003). Binding and textural properties of beef gels processed with κ -carrageenan, egg albumin and microbial transglutaminase. *Meat Science*, *63*(3), 317–324.
- Pietrasik, Z., & Jarmoluk, A. (2003). Effect of sodium caseinate and κ -carrageenan on binding and textural properties of pork muscle gels enhanced by microbial transglutaminase addition. *Food Research International*, *36*(3), 285–294.
- Pietrasik, Z., & Li-Chan, E. C. Y. (2002). Response surface methodology study of the effect of salt, microbial transglutaminase and heating temperature on pork batter gel properties. *Food Research International*, *35*(4), 387–396.
- Rocha-Garza, A. E., & Zayas, J. F. (1996). Quality of broiled beef patties supplemented with wheat germ protein flour. *Journal of Food Science*, *61*(2), 418–421.
- Ruiz-Carrascal, J., & Regenstein, J. (2002). Emulsion stability and water uptake ability of chicken breast muscle proteins as affected by microbial transglutaminase. *Journal of Food Science*, *67*(2), 734–739.
- Sabaté, J. (1993). Does nut consumption protect against ischaemic heart disease? *European Journal of Clinical Nutrition*, *47*(1), S71–S75.
- Saleh, N. T., & Ahmed, Z. S. (1998). Impact of natural sources rich in provitamin A on cooking characteristics, colour, texture and sensory attributes of beef patties. *Meat Science*, *50*(3), 285–293.
- Shao, C. H., Avens, J. S., Schmidt, G. R., & Maga, J. A. (1999). Functional, sensory and microbiological properties of restructured beef and emu steak. *Journal of Food Science*, *64*(6), 1052–1054.
- Sheard, P. R., Nute, G. R., & Chappell, A. G. (1998). The effect of cooking on the chemical composition of meat products with special reference to fat loss. *Meat Science*, *49*(2), 175–191.
- Trout, G. R., Chen, C. M., & Dale, S. (1990). Effect of calcium and carbonate and sodium alginate on the textural characteristics, color and color stability of restructured pork chops. *Journal of Food Science*, *55*(1), 38–42.
- Tsai, S. J., Unklesbay, N., Unklesbay, K., & Clarke, A. (1998). Textural properties of restructured beef products with five binders at four isothermal temperatures. *Journal of Food Quality*, *21*(5), 397–410.
- Tseng, T. F., Liu, D. D., & Chen, M. T. (2000). Evaluation of transglutaminase on the quality of low-salt chicken meat-balls. *Meat Science*, *55*(4), 427–431.
- Wijngaards, G., & Paardekooper, E. J. C. (1988). Preparation of a composite meat product by means of enzymatically formed protein gel. In B. Krols, P. S. van Roon, & J. H. Houben (Eds.), *Trends in modern meat technology 2* (pp. 125–129). Wageningen, Netherlands: Pudoc.

SECCIÓN II

PERFIL NUTRICIONAL.

RESUMEN DEL CAPÍTULO.

Acorde con el segundo objetivo de la Tesis, en esta **SECCIÓN II** se aborda el estudio del perfil nutricional de un reestructurado cárnico elaborado con un 20 % de nuez.

Capítulo II.1. Perfil nutricional de filetes reestructurados de vacuno con nuez incorporada. “*Nutritional profile of restructure beef steak with added walnuts*”. *Meat Science*, 70 (2005): 647-654.

El estudio que se expone en este capítulo pretendió analizar como la incorporación de un 20 % de nuez (20W), condiciona el perfil nutricional del producto. Tanto en las muestra control (0 % Nuez), como en las que contenían un 20 % de nuez (20W), se evaluaron componentes mayoritarios, contenido en aminoácidos, perfil de ácidos grasos, colesterol, vitamina E y minerales (Figura III.4).

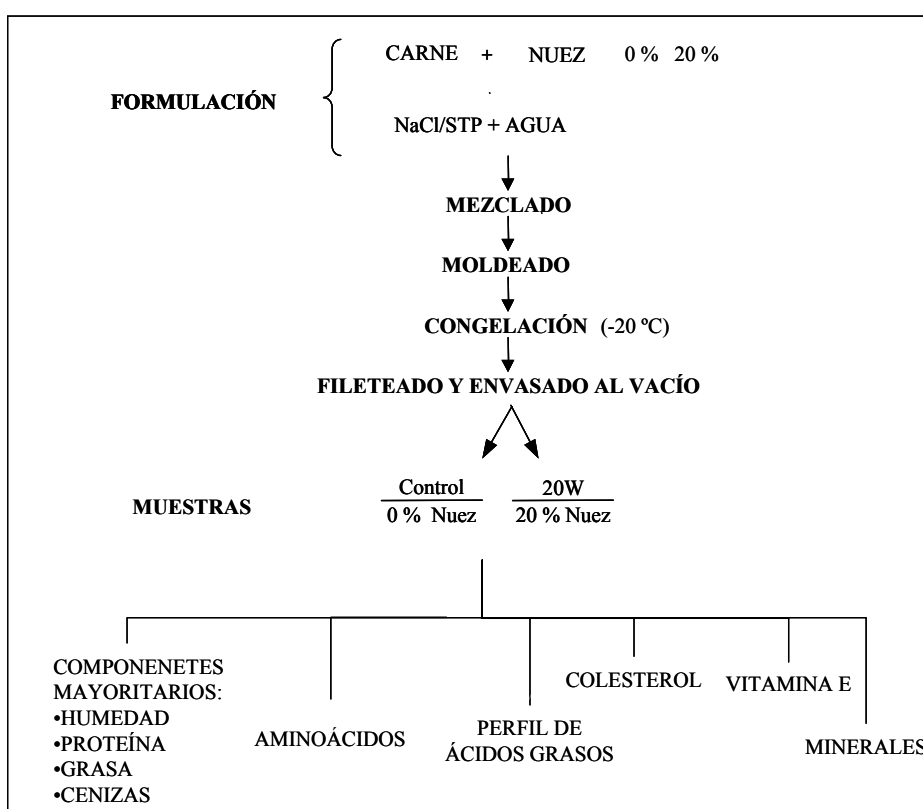


Figura III.4. Diseño del experimento y parámetros evaluados para el estudio del perfil nutricional de los filetes reestructurados elaborados.

Los filetes con un 20 % de nuez comparados con el control, presentaron una relación más baja ($P < 0,05$) de lisina/arginina, mayor ($P < 0,05$) cantidad (mg/100 g de producto) de MUFA y PUFA $n-3$ (LNA, principalmente), y una relación inferior ($P < 0,05$) de $n-6/n-3$ y superior ($P < 0,05$) de PUFA/SFA. Asimismo, la sustitución de carne por nuez provocó una reducción ($P < 0,05$) de la presencia de colesterol, junto a un incremento (más de 400 veces) de la cantidad de γ -tocoferol. El contenido en los minerales hierro, calcio, magnesio y manganeso de las muestras 20W fue mayor ($P < 0,05$) que en el control.

Estos cambios en el perfil nutricional de los filetes reestructurados debido a la incorporación de un 20 % de nuez, podrían dotar al producto de potenciales beneficios para la salud frente a la prevención del riesgo cardiovascular, principalmente. Sin embargo, la demostración del efecto funcional está siendo realizada por otros equipos de investigación pertenecientes al Hospital Universitario Puerta de Hierro y a la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. Esta actividad se lleva a cabo en el marco de un proyecto coordinado, financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología, AGL2001-2398-C03-01, del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I).

Capítulo II.1

Perfil nutricional de filetes reestructurados de vacuno con nuez incorporada.

“Nutritional profile of restructure beef steak with added walnuts”.

Este capítulo corresponde a una publicación de la revista *Meat Science*, 70 (2005): 647-654.

Nutritional profile of restructured beef steak with added walnuts

A. Serrano^a, S. Cofrades^a, C. Ruiz-Capillas^a, B. Olmedilla-Alonso^b,
C. Herrero-Barbudo^b, F. Jiménez-Colmenero^{a,*}

^a Instituto del Frio (CSIC), Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, Spain

^b Hospital Universitario Puerta de Hierro, San Martín de Porres 4, 28035 Madrid, Spain

Received 1 January 2005; received in revised form 25 February 2005; accepted 25 February 2005

Abstract

Amino acid, fatty acid profile, cholesterol, vitamin E and mineral contents were assessed in restructured beef steak with 20% added walnut (20W). Compared with control restructured beef steak (0% added walnut), the product with added walnut presented a lower ($P < 0.05$) lysine/arginine ratio, larger ($P < 0.05$) quantities (mg/100 g product) of monounsaturated (MUFA) and $n3$ polyunsaturated (PUFA) fatty acids (mainly α -linolenic acid), a lower ($P < 0.05$) $n6/n3$ PUFA ratio and a higher ($P < 0.05$) polyunsaturated/saturated fatty acid ratio. The replacement of raw meat material by walnut reduced ($P < 0.05$) the cholesterol content and increased (more than 400 times) the amount of γ -tocopherol. Iron, calcium, magnesium and manganese contents of 20W sample were greater ($P < 0.05$) than in the control. Some changes induced by added walnut in the nutritional quality of the restructured product may present health benefits.

© 2005 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Restructured beef steak; Walnut; Amino acids; Fatty acids; Cholesterol; Vitamin E; Minerals

1. Introduction

Nutrition is coming to the fore as a major modifiable determinant of non-communicable chronic diseases, with scientific evidence increasingly supporting the view that alterations in diet have strong effects, both positive and negative, on health throughout life (WHO, 2003). Optimal nutrition is focused to optimize the quality of the daily diet in terms of its content in nutrients and non-nutrients, and also other food properties that favour the maintenance of health. It is in this context that the so-called *functional foods* emerged and have come to represent one of the fastest growing segments of the world food industry.

Observational epidemiological studies show an inverse relationship between frequency of walnut con-

sumption and risk of coronary heart disease (CHD) (Albert, Gaziano, Willett, & Manson, 2002; Fraser, Sabaté, Beeson, & Strahan, 1992). Walnuts, as part of a heart-healthy diet, reduce cholesterol concentrations in humans and animals (Feldman, 2002; Iwamoto et al., 2000; Sabaté, 1993). However, only in some intervention studies with randomized crossover dietary periods has this protective effect been observed as a result of the regular intake of walnuts (Iwamoto et al., 2000; Sabaté et al., 1993). The FDA recently authorized a qualified health claim indicating that eating 42.5 g per day of walnuts, as part of a low-saturated-fat and low-cholesterol diet and not resulting in increased caloric intake, may reduce the risk of CHD (FDA, 2004). This effect has been associated with the peculiar blend of nutrients and phytochemical compounds found in walnuts: high-biological-value proteins (low lysine/arginine ratio), vegetable fibre, monounsaturated (oleic) and polyunsaturated (linoleic and α -linolenic) fatty acids and micronutrients such as folic acid, magnesium, liposoluble

* Corresponding author. Fax: +34 91 5493627.

E-mail address: fjimenez@if.csic.es (F. Jiménez-Colmenero).

vitamins (especially γ -tocopherol) and other antioxidants (phytosterols and polyphenols).

Since not many people can be persuaded to consume walnuts in their pure state every day over a long period, it has been suggested that a good way to promote walnut intake would be to include walnuts in dishes prepared with nuts (Diehl, 2002), and to use them as an ingredient especially in frequently consumed foods. One such food is meat and meat derivatives, which constitute a very important component of the diet. Meat product processing makes it possible to introduce changes (replace, add or increase) in the amount and types of some components with potential functional effects. Modification of the ingredients used for the preparation of meat products has been tested in various ways with a view to enhancing health-beneficial components (Lee et al., 1998; Jiménez Colmenero, Carballo, & Cofrades, 2001; Kim, Godber, & Prinayiwatkul, 2000). With strategies of this kind, restructured beef steaks with walnuts as an ingredient have been formulated resulting in products with acceptable physicochemical and sensory properties (Cofrades et al., 2004; Jiménez Colmenero et al., 2003).

These reformulated meat products could be considered potential functional foods in that they incorporate biologically active components that have the potential to produce functional effects. Since there have been no studies addressing the issue, the object of this paper is to analyse how the addition of walnut (20%) influences the nutritional profile (amino acids, fatty acids, cholesterol, vitamin E and mineral contents) of restructured beef steak.

2. Materials and methods

2.1. Preparation of products

Select beef top rounds (15 kg) were trimmed of visible fat and connective tissue and cut into strips ($\approx 5 \times 4 \times 20$ cm). Lots of approximately 1.2 kg were vacuum-packed, frozen and stored (-18 °C) until use.

For the preparation of restructured beef steak, meat packages were thawed (≈ 18 h 3 ± 2 °C, reaching between -3 and -5 °C) and passed once through a grinder (Mainca, Granollers, Spain) with a 2 cm plate. Two different restructured beef steaks (Table 1) containing 0% (control) and 20% (20W) added walnut (ground down to a particle size of <0.8 mm, supplied by Bernado Josa Quilez, Valencia, Spain) were prepared according to Cofrades et al. (2004). In the formulation of the 20W

sample, the added walnut replaced an equal percentage of raw meat material. Restructured steaks (140 ± 3 g; 1.0 ± 0.05 cm thick) were frozen, packed individually in vacuum bags (Cryovac® BB4L, oxygen permeability $30 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ 24 h}^{-1}$ at 23 °C, 0% RH and 1 bar) and stored at -20 °C until evaluation (within the first two weeks after production of the steaks). Portions, taken from at least two steaks (280 g) for each type of sample (control and 20W) were used for the following determinations.

2.2. Proximate analysis

Moisture and ash contents of the raw samples were determined in quadruplicate by AOAC (2000) methods 950.46 and 923.03, respectively. Fat content was evaluated in duplicate according to Bligh and Dyer (1959). Protein content was measured in quadruplicate according to AOAC (2000) method No. 992.15, by a Nitrogen Determinator LECO FP-2000 (Leco Corporation, St. Joseph, MI, USA).

2.3. Amino acid content

Sample amino acid content was determined by direct hydrolysis (in triplicate) in vacuum glass tubes at a ratio of 1:10 (w:v) with 6 N HCl and 2% phenol at 110 °C for 24 h. The amino acids were separated by means of cation-exchange chromatography, using a Biochron 20 automatic amino acid analyser (Amersham Pharmacia Biotech, Biocom, Uppsala, Sweden) with a high-resolution cation-exchange resin column Ultropac (9 ± 0.5 μm particle size, Pharmacia Biotech) 200×4.6 mm. The amino acids were determined and measured using ninhydrin derivative reagent at 570 nm. Proline was measured at 440 nm.

2.4. Fatty acid analysis

Lipids were extracted (in duplicate) as per Bligh and Dyer (1959). Esterification was performed according to UNE-EN ISO 5509, 2000. Fatty acids were determined as methyl esters (FAME) using a Perkin-Elmer gas chromatograph (Model 8500, Norwalk, Connecticut, USA) equipped with flame ionization detector (FID). Separations were carried out on a 60 m DB-63 (J&W, Agilent Technologies, USA) fused silica capillary column (0.25 mm i.d., 0.15 μm phase thickness). Operation parameters were: oven temperature 170 °C, injector temperature 250 °C and FID temperature 280 °C. Peaks

Table 1
Formulation of restructured beef steaks

Samples	Beef (g)	NaCl + STP ^a (g)	Walnut (g)	Water (g)	Total (g)
Control (0% added walnut)	3508	80 + 12	0	400	4000
20W (20% added walnut)	2708	80 + 12	800	400	4000

^a STP-sodium tripolyphosphate.

were identified by comparison with a known FAME standard mixture (Supelco, Alltech Associated, Inc. Deerfield, IL, USA). Quantification was accomplished using glyceryl tridecanoate (C13:0) which was added (as an internal standard) to samples (C and 20W) prior to lipid extraction.

Atherogenic and thrombogenic indices were calculated according to Ulbricht and Southgate (1991).

2.5. Cholesterol content

The fatty substances were extracted (in duplicate) by chloroform–methanol (AOAC, 2000) method No. 983.23. Cholesterol content was determined from unsaponifiable extract following recovery of the sterols fraction, and further transformation into trimethyl-silyl ethers. These derivatives were analysed by capillary-column gas chromatography (EEC, 1991). Betulin was used instead of α -cholestanol as an internal standard.

2.6. Vitamin E

Three naturally occurring forms of vitamin E (α -tocopherol, γ -tocopherol and δ -tocopherol) were analysed. These were extracted using tetrahydrofuran/methanol (1:1) and the extraction was repeated three times. Organic phases were pooled, evaporated under nitrogen atmosphere, reconstituted with ethanol/tetrahydrofuran (1:1) and injected into an HPLC. Quality-controlled HPLC consisting of a Spherisorb-ODS column (Brownlee columns, Perkin–Elmer, USA) and precolumn C18-ODS (Phenomenex, Germany) with gradient elution of acetonitrile/methanol (85/15) and acetonitrile/methylene chloride/methanol (70/20/10) at 1.8 ml/min (Olmedilla, Granado, Gil-Martínez, Blanco, & Rojas-Hidalgo, 1997). Detection was by fluorescence (Multilambda fluorescence detector, Model 2475, Waters Associates, Milford, USA), excitation 295 nm and emission 330 nm.

2.7. Minerals

Samples were ashed in triplicate in a furnace, with temperature gradients between 105 and 500 °C. The ash was dissolved in 2 ml concentrated nitric acid and diluted to 100 ml with Milli-Q water. The minerals were determined on an atomic absorption spectrophotometer (Perkin–Elmer, Model 5100, Norwalk, Connecticut, USA). A hollow cathode lamp was used to determine Ca, Fe, Mg, Zn, Cu and Mn. Na and K were analysed by atomic emission (without a lamp). The analytical curve was determined for each element.

2.8. Statistical analysis

Data were analysed using Statgraphics Plus 2.1 (STSC Inc., Rockville, MD) for one-way ANOVA. The

least squares method was used to identify significant differences ($P < 0.05$) among samples.

3. Results and discussion

Added walnut affected the proximate composition of restructured beef steak (Table 2). Although ash contents were similar ($P > 0.05$), addition of walnut increased ($P < 0.05$) fat values (by around 13%) and reduced ($P < 0.05$) moisture (in the same proportion in which fat was increased) and protein content. Similar results have been reported previously on proximate analysis (Jiménez Colmenero et al., 2003). The compositions of both samples are consistent with meat product formulations where meat was replaced by added walnut. In the 20W sample, part of the protein content (around 15%) and a much larger proportion (around 90%) of the fat content came from walnut. The addition of 20% walnut also furnished dietary fibre, estimated from walnut composition (USDA, 2004) at around 1% (Table 2). Caloric content was 99 kcal/100 g in the control sample and 213 kcal/100 g in the 20W sample, approximately 62% of it from fat (Table 2).

One hundred grams of 20W restructured steak would supply 20 g of walnut to the diet; this is almost half (47%) of the daily amount recommended by the FDA (2004) to allow a qualified health claim for product labels for walnut and to reduce the risk of coronary heart disease.

3.1. Amino acid content

The addition of walnut caused some changes in the proportion of several amino acids (Table 3). These were significant only in the cases of valine, alanine, tyrosine, and particularly the increase ($P < 0.05$) in the level of arginine. Such changes can be attributed to a variety of factors, such as the restructured protein content (Table 2) or the proportion of walnut protein and its amino acid composition. Walnuts are a good source of protein rich in arginine; the amino acid arginine is a precursor of nitric oxide, a potent vasodilator which can

Table 2
Proximate composition (%) and calorie content (kcal/100 g) of control and 20% added walnut (20W) restructured beef steak^A

	Control	20W	SEM
Moisture	74.69 ^a	61.12 ^b	0.23
Protein	20.56 ^a	19.54 ^b	0.19
Fat	1.57 ^a	14.52 ^b	0.07
Ash	3.13 ^a	3.18 ^a	0.07
Calories	99	213	–

^A Different letters in the same row indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM, standard error of the mean. Calorie content estimated on basis of 9.1 kcal/g for fat and 4.1 kcal/g for protein and carbohydrates.

Table 3

Amino acid content (g/100 g of edible portion) of control and 20% added walnut (20W) restructured beef steak^A

	Control	20 W	SEM
Threonine	0.94	0.93	0.02
Isoleucine	0.60	0.66	0.01
Leucine	1.57	1.61	0.03
Lysine	1.67	1.54	0.03
Methionine	0.60	0.55	0.01
Valine	0.73 ^a	0.85 ^b	0.01
Phenylalanine	0.89	0.92	0.02
Histidine	0.75	0.73	0.01
Cystine	0.22	0.21	0.01
Arginine	1.25 ^a	1.46 ^b	0.01
Tyrosine	0.83 ^a	0.79 ^b	0.01
Alanine	1.13 ^a	1.30 ^b	0.01
Aspartic acid	1.96	1.97	0.02
Glutamic acid	3.38	3.55	0.06
Glycine	0.91	0.91	0.00
Proline	1.06	1.04	0.01
Serine	1.02	1.05	0.01
Lysine/Arginine ratio	1.33 ^a	1.06 ^b	0.02

^A Different letters in the same row indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM, standard error of the mean.

inhibit platelet adhesion and aggregation (Sabaté et al., 1993). Animal proteins also contain arginine, but plant proteins give a much better biological availability of arginine because of the lower lysine/arginine ratio. Beef protein has a lysine/arginine ratio close to 1.3 (Pellett & Young, 1990; USDA, 2004), which is comparable to that of the control sample (Table 3). The presence of walnut protein (20W) caused the lysine/arginine ratio to decrease ($P < 0.05$) (Table 3). Many studies support the hypothesis that arginine or a low lysine/arginine ratio reduces atherosclerosis and report beneficial effects with regard to heart failure, blood pressure and stroke (Feldman, 2002).

3.2. Fatty acid composition and cholesterol content

The fatty acid composition of restructured steak was different for each formulation (Table 4). The fatty acids in the control sample (all meat) came from the lean raw meat material, which was composed essentially of intramuscular fat. The most abundant fatty acids in the control sample were the saturated fatty acids (SFA) (Table 4), followed by monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids; MUFA and PUFA together accounted for 58% of total fatty acids. These results are comparable to those reported by other authors for lean beef (Raes et al., 2003; Raes, De Smet, & Demeyer, 2004a; Raes et al., 2004b). Intramuscular fat contained smaller proportions of SFA and MUFA and higher proportions of PUFA than removable depot fat (Raes et al., 2004a). Leaner cuts, containing a larger percentage of phospholipids, had higher percentages of PUFA (Badiani et al., 2002).

In view of the implications of dietary fats for human health and the fact that meat and meat products are

Table 4

Fatty acid composition and cholesterol content of control and 20% added walnut (20W) restructured beef steaks^A

	Control	20W	SEM
<i>Percentage of total fatty acids</i>			
SFA	42.1 ^a	11.2 ^b	0.24
MUFA	38.0 ^a	13.7 ^b	0.25
PUFA	19.8 ^a	74.9 ^b	0.26
<i>mg/100 g product</i>			
C 12:0	1.22 ^a	7.18 ^b	0.66
C 14:0	26.70 ^a	31.45 ^b	1.25
C 16:0	299.6 ^a	972.8 ^b	13.94
C 18:0	206.5 ^a	436.2 ^b	6.68
C 20:0	2.58 ^a	12.41 ^b	0.54
Others	22.00 ^a	57.47 ^b	1.53
ΣSFA	558.6 ^a	1517 ^b	16.53
C 16:1n7	26.90 ^a	29.96 ^a	1.15
C 18:1n9ln7	427.6 ^a	1767.1 ^b	20.67
C 20:1n9ln11	8.96 ^a	47.20 ^b	1.09
Others	41.48 ^a	33.18 ^b	0.99
ΣMUFA	504.9 ^a	1877 ^b	20.64
C 18:2n6	176.5 ^a	7952 ^b	126.4
C 18:3n6	1.27 ^a	9.31 ^b	0.15
C 20:2n6	3.12 ^a	12.53 ^b	1.09
C 20:3n6	9.17 ^a	6.90 ^a	1.13
C 20:4n6	49.05 ^a	32.42 ^b	0.90
Σn6	239.5 ^a	8013 ^b	126.4
C 18:3n3	8.36 ^a	2068 ^b	29.73
C 20:5n3	14.23 ^a	41.06 ^b	1.24
C 22:6n3	0.84 ^a	7.67 ^b	0.65
Σn3	23.40 ^a	2116 ^b	29.65
ΣPUFA	263.0 ^a	10130 ^b	126.3
ΣPUFA/ΣSFA	0.47 ^a	6.67 ^b	0.13
ΣMUFA + PUFA/ΣSFA	1.37 ^a	7.43 ^b	0.14
n6/n3 ratio	10.23 ^a	3.79 ^b	0.28
Atherogenic index	0.53 ^a	0.09 ^b	0.00
Thrombogenic index	1.22 ^a	0.13 ^b	0.01
Cholesterol	43.60 ^a	37.50 ^b	0.65

^A Different letters in the same row indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM, standard error of the mean.

among the principal sources of such fats, various strategies have been used to produce healthier meat. One of these entails the use in their formulation of plant ingredients, like walnut, which have a particularly promising lipid profile. The addition of walnut had a major effect on the fatty acid profile (Table 4). It caused a reduction ($P < 0.05$) in percentage terms of SFA and MUFA, and an increase ($P < 0.05$) of PUFA, mainly essential fatty acids C18:2n6 (linoleic acid, LA) and C18:3n3 (α -linolenic acid, LNA), which accounted for three quarters of the fatty acids present. The sum of MUFA and PUFA accounted for almost 90% of total fatty acids. The higher fat content in the 20W sample (Table 2) caused an increase ($P < 0.05$) in individual fatty acids (mg/100 g product) (Table 4). These results are consistent with the type of formulation and the lipid profile of the walnut fat ($\approx 63\%$), which is rich in MUFA and PUFA (LA and LNA, which, respectively, account for 58% and 12% of total fatty acids) (Moreiras, Carbajal, Cabrera, & Cuadrado, 2003; Ravai, 1995; Sabaté, 1993; USDA, 2004).

The MUFA content of restructured steak with walnut was higher by 1.8 g/100 g (Table 4). The favourable effect of high-monosaturated-fat diets on serum lipoproteins has been documented (Mattson & Grundy, 1985). The *n3* PUFA content in the 20W sample was 90 times greater than in the control sample (Table 4), mostly due to the presence of LNA, the main non-marine *n3* fatty acid in the diet (Albert et al., 2002). Since the synthesis of C20:5*n3* and C22:6*n3* appears to be limited in man, even at the recommended *n6/n3* ratio (see below), consumption of more than 2 g/day of preformed *n3* PUFA has been recommended (Barroeta & Cortinas, 2004); very close to that provided by 100 g of 20W (Table 4). This class of fatty acid has been found to possess various health benefits, such as prevention of the more common cancers (breast and colon), rheumatoid arthritis, inflammatory bowel diseases and cardiovascular diseases (Hoz, D'Arrigo, Camberro, & Ordoñez, 2004).

It has been suggested that the balance between the intake of *n6* and *n3* PUFA is more important than levels of intake of individual fatty acids with regard to many metabolic functions in the human body. A number of studies suggest that increased intake of *n6* and associated relative *n3* deficiency, and not cholesterol, is the major risk factor for cancers, coronary heart disease and cerebrovascular disease (Okuyama & Ikemoto, 1999). In order to improve the health status of humans, it has been recommended that the *n6/n3* PUFA ratio should be less than 4, but it is higher than this in some meats (Wood et al., 2003). Because the typical “western” diet provides high levels of *n6* PUFA and low levels of *n3* PUFA, the production of meat products with a more favourable ratio may help to solve this problem (Surai & Sparks, 2001). Whereas the *n6/n3* PUFA ratio was 10.2 in the control sample, close to the levels reported by other authors for beef (Badiani et al., 2002; Okuyama & Ikemoto, 1999), a more favourable balance (*n6/n3* < 4) was found in the 20W sample (Table 4). This was a consequence of the fact that the increase in *n3* PUFA was proportionally greater than the increase of *n6* PUFA.

Along with *n6/n3*, the PUFA/SFA ratio is one of the main parameters currently used to assess the nutritional quality of the lipid fraction of food. Nutritional guidelines recommend a PUFA/SFA ratio above 0.4–0.5 (Wood et al., 2003). Since this ratio can be approximately 0.1 for the meat of ruminants (Badiani et al., 2002; Enser, 2000), a variety of strategies have been tried (Raes et al., 2003; Raes et al., 2004a; Wood et al., 2003) to bring the meat closer to the recommended value. As a result, it was possible to attain values similar to those reached in the control sample (0.47) (Table 4). A higher PUFA/SFA ratio (by up to 13 times) was achieved with the addition of 20% walnut.

The atherogenicity index and thrombogenicity index of the control sample (Table 4) were lower than those reported for beef (ranges of 0.75–0.79 and 1.60–1.85,

respectively) by other authors (Badiani et al., 2002). The presence of walnut led to a reduction ($P < 0.05$) of both indices (Table 4).

The cholesterol content of the control sample was higher ($P < 0.05$) than in the restructured steak with added walnut (Table 4). The cholesterol level of the control sample was similar to that of lean beef (USDA, 2004) and restructured beef (Kim et al., 2000). The substitution of meat with walnut lowered the cholesterol content. It has been recommended that cholesterol intake should be limited to less than 300 mg/day (WHO, 2003). Consumption of 100 g of restructured steak with added walnut would provide about 12.5% of the WHO recommended intake.

3.3. Vitamin E

The α -tocopherol content of the control restructured steak was lower than has been described for beef, where it is generally in the range 0.20–0.65 mg/100 g (CESNID, 2004; Souci, Fachmann, & Kraut, 1989; USDA, 2004). This effect may be linked to the formulating conditions; use of lean meat and 10% added water (Table 1). The addition of walnut doubled the α -tocopherol content of the restructured steak (Table 5).

There are very few references in food composition tables to other naturally occurring forms of vitamin E such as γ -tocopherol or δ -tocopherol, probably because they are not considered to be helpful in meeting the required vitamin E intake (recommended dietary allowance – RDA – for men and women is 15 mg α -tocopherol/day) (IOM, 2001); this is because although absorbed, they are not converted to α -tocopherol by humans and are poorly recognized by the α -tocopherol transfer protein in the liver (IOM, 2000). Nonetheless, antioxidant activity has been observed not only in α -tocopherol, but also in γ -tocopherol and δ -tocopherol (Christen et al., 1997; Jiang, Cristen, Shigenaga, & Ames, 2001). γ -Tocopherol is capable of scavenging reactive nitrogen species produced at the site of inflammation (e.g., peroxynitrite), a process involved in atherogenesis (Jiang et al., 2001), more effectively than α -tocopherol. In addition, γ -tocopherol can enhance nitric oxide generation and the expression of endothelial nitric oxide synthase, suggesting that this isomer may also be important in preventing vascular endothelial dysfunction (Carr & Frei, 2000;

Table 5
Vitamin E content (mg/100 g) of control and 20% added walnut (20W) restructured beef steaks^A

	Control	20W	SEM
α -Tocopherol	0.09 ^a	0.20 ^b	0.00
γ -Tocopherol	0.01 ^a	4.07 ^b	0.07
δ -Tocopherol	nd	0.87	0.02

^A nd, not detected. Different letters in the same row indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM, standard error of the mean.

Jiang et al., 2001). Restructured steak with walnut (20W) would enrich the diet with a considerable amount of γ -tocopherol (bringing it over 400 times higher than in the case of the control sample) (Table 5), a compound of great interest for its role as an agent in the prevention of vascular diseases.

3.4. Minerals

The addition of 20% walnut altered the concentrations of some of the minerals present in the restructured steaks (Table 6). The iron, calcium, magnesium and manganese contents of restructured beef steak with added walnut were higher ($P < 0.05$) than in the control. Potassium and zinc contents were not affected ($P > 0.05$) by this type of formulation (Table 6). These results were a consequence of the relative contributions of meat and walnut. Walnut contains more iron, calcium, magnesium and manganese than meat (Moreiras et al., 2003; Ravai, 1995; USDA, 2004); however, these minerals are much less bioavailable in vegetable foods.

Restructured beef steak (control and 20W) contains iron levels per 100 g of product equal to nearly 25% of the RDA (8 mg/day) for all age groups of men and postmenopausal women (RDA, 18 mg for premenopausal women) (IOM, 2001). Because meat is the predominant iron source, bioavailability is assured, and hence the new product can still have a major impact on groups vulnerable to iron deficiency. Iron deficiency is one of the most prevalent nutritional deficiencies worldwide, in both developing and developed nations (Neumann, Harris, & Rogers, 2002). Meat is one of the best sources of zinc. The two samples (control and 20W) contained similar ($P > 0.05$) concentrations of zinc (Table 6), which was highly bioavailable thanks to its origin (largely meat). The bioavailability of zinc from walnut could also be high given that its bioavailability is enhanced when it is consumed with meat protein (Higgs, 2000). Every 100 g of 20W sample provided levels ranging from 25% to 49% of the RDA for adults (8 mg/day for women and 11 mg/day for men) (IOM, 2001). Given the widespread effects of zinc deficiency on morbidity, mortality, growth and development, policy makers should pay much more attention to improving diet quality through food-based

approaches or by supplementation where needed to address severe deficiency (Neumann et al., 2002).

The presence of walnut (20W) doubled the concentration of magnesium with respect to the control sample (Table 6). This means that 100 g of 20W would contribute nearly 10% of the RDA (women 19–70 years of age 310–320 mg/day; men 19–70 years of age, 400–420 mg/day) (IOM, 1997). In this way meats, considered to have an intermediate level of magnesium, can be made to contribute more of a micronutrient which is reported to have potential antiarrhythmic effects (Albert et al., 2002). Meats are poor sources of manganese; the highest concentrations of this mineral occur in nuts, and therefore the formulation of meat derivatives containing both types of ingredients presents a good opportunity to improve their general level of intake. The presence of walnut considerably influenced the manganese content of 20W (Table 6), which was almost nine times greater than in the control sample. Manganese is considered an essential nutrient owing to its function as an enzyme activator and because it is part of various metalloenzymes; however, a clinical deficiency has not been clearly associated with poor dietary intakes of healthy individuals (IOM, 2001). An adequate intake of manganese has been established as 2.3 mg/day for men and 1.8 mg/day for women (IOM, 2001), and therefore 100 g of restructured beef steak with added walnut would provide more than a quarter (around 27% in men and 35% in women) of the adequate intake.

It is increasingly being recognized that certain foods and their components can deliver health benefits beyond their nutritional value. Some evidence suggests that in the context of total diet, walnuts may present a number of health benefits. This study has demonstrated that meat products (frequently consumed foods) to which walnut is added (20%) could be considered potential foods in that they incorporate several biologically active components that have the potential to produce functional effects (improvement of health status and well-being and/or reduction of risk of disease).

Since walnuts may only be effective when used to replace other calories in the diet (FDA, 2004), a real appraisal of the nutritional benefits of the meat products formulated would require a comparison between the nutritional profiles of these products and a commercial product containing a comparable amount of fat but of animal origin. In connection with these meat derivatives, it would be particularly interesting to analyse the effect of the presence of walnut on their stability. Their lipid contents and their high degree of unsaturation would favour lipid oxidation, but the presence of antioxidants could help limit the rate and the extent of such oxidation. Work is in progress to assess how processing and storage conditions may affect product stability. At the same time, the potential heart-health benefits conferred by walnut in such meat derivatives are currently being

Table 6
Mineral content (mg/100 g) of control and 20% added walnut (20W) restructured beef steaks^A

	Control	20W	SEM
Iron	2.08 ^a	2.61 ^b	0.06
Zinc	3.90 ^a	3.95 ^a	0.29
Calcium	7.69 ^a	18.82 ^b	0.25
Magnesium	20.21 ^a	41.38 ^b	0.47
Manganese	< 0.07 ^a	0.63 ^b	0.00
Potassium	340 ^a	339 ^a	1.54

^A Different letters in the same row indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM, standard error of the mean.

assessed in terms of bioavailability and their impact on intermediate cardiovascular risk markers in humans.

Acknowledgements

This research was supported under Project AGL2001-2398-C03-01 and 02 of the Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I + D + I). Ministerio de Ciencia y Tecnología.

References

- Albert, C. M., Gaziano, J. M., Willett, W. C., & Manson, J. E. (2002). Nut consumption and decreased risk of sudden cardiac death in the physicians health study. *Archives of Internal Medicine*, 162(12), 1382–1387.
- AOAC (2000). *Official methods of analysis of AOAC international*, 17th ed. Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry.
- Badiani, A., Stipa, S., Bitossi, F., Gatta, P. P., Vignola, G., & Chizzolini, R. (2002). Lipid composition, retention and oxidation in fresh and completely trimmed beef muscles as affected by common culinary practices. *Meat Science*, 60(2), 169–186.
- Barroeta, A., & Cortinas L. (2004). Estrategias genéticas y nutricionales en la modificación de la composición de la carne. In F. Jiménez Colmenero, F. J. Sánchez-Muniz, & B. Olmedilla (Eds.). *La Carne y Productos Cárnicos como Alimentos Funcionales* (pp. 59–74). Madrid, Spain: editec@red.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extractions and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911–917.
- Carr, A., & Frei, B. (2000). The role of natural antioxidants in preserving the biological activity of endothelium-derived nitric oxide. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(12), 1806–1814.
- CESNID (2004). *Tabla de Composición de Alimentos del CESNID*. McGraw-Hill/Interamericana: Barcelona, Spain.
- Christen, S., Woodall, A. A., Shigenaga, M. K., Sothwell-Keely, P. T., Duncan, M. W., & Ames, B. N. (1997). Gamma-tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NO_x and complements alpha-tocopherol: physiological implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(7), 3217–3222.
- Cofrades, S., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Carballo, J., & Jiménez Colmenero, F. (2004). Restructured beef with different proportions of walnut as affected by meat particle size. *European Food Research and Technology*, 218(3), 230–236.
- Diehl, J. F. (2002). The stage is set for nutrition message in Europe. International Tree Nut Council-INC. Available from http://inc.treenuts.org/art_apr01_2.html. Accessed 15/01/2002.
- EEC (1991). Determination of the composition and content of sterols by capillary-column gas chromatography. *Official Journal of the European Communities*, L248, Annexe V, 15–22.
- Enser, M. (2000). Producing meat for healthy eating. In *Proceeding 46th international congress of meat science and technology*, (Vol. I, pp. 124–129). Argentina: Buenos Aires.
- FDA (2004). U.S. Food and Drug Administration. Office of Nutritional Products, Labeling and Dietary Supplements. Qualified Health Claims: Letter of Enforcement Discretion. *Walnuts and Coronary Heart Disease* (Docket No 02P-0292), March, 9. Available from <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/qhcnuts3.html>. Accessed 28/10/2004.
- Feldman, L. B. (2002). The scientific evidence for a beneficial health relationship between walnuts and coronary disease. *Journal of Nutrition*, 132(5), 1062S–1101S.
- Fraser, G. E., Sabaté, J., Beeson, W. L., & Strahan, T. M. (1992). A possible protective effect of nut consumption on risk of coronary heart disease. The Adventist Health Study. *Archives of Internal Medicine*, 152(7), 1416–1424.
- Higgs, J. D. (2000). The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science and Technology*, 11(3), 85–95.
- Hoz, L., D'Arrigo, M. D., Camberro, I., & Ordoñez, J. A. (2004). Development of an n – 3 fatty acid and α -tocopherol enriched dry fermented sausage. *Meat Science*, 67(3), 485–495.
- IOM (1997). Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride. *Food and Nutrition Board*. Institute of Medicine. Washington, DC, USA: National Academic Press.
- IOM (2000). Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. *Food and Nutrition Board*. Institute of Medicine. Washington, DC, USA: National Academic Press.
- IOM (2001). Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. *Food and Nutrition Board*. Institute of Medicine. Washington, DC, USA: National Academic Press.
- Iwamoto, M., Sato, M., Kono, M., Hirooka, Y., Sakai, K., Takeshita, A., et al. (2000). Walnuts lower serum cholesterol in Japanese men and women. *Journal of Nutrition*, 130(2), 171–176.
- Jiang, Q., Cristen, S., Shigenaga, M. K., & Ames, B. N. (2001). γ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74(6), 714–722.
- Jiménez Colmenero, F., Carballo, J., & Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59(1), 5–13.
- Jiménez Colmenero, F., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Cofrades, S., & Carballo, J. (2003). Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science*, 65(4), 1391–1397.
- Kim, J. S., Godber, J. S., & Prinayiwatukul, W. (2000). Restructured beef roasts containing rice bran oil and fiber influences cholesterol oxidation and nutritional profile. *Journal of Muscle Foods*, 11(2), 111–127.
- Mattson, F. H., & Grundy, S. M. (1985). Comparison of effects of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *Journal of Lipid Research*, 26(2), 194–202.
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., & Cuadrado, C. (2003). *Tablas de composición de alimentos* (7ª Ed.). Ediciones Piramide. Madrid, Spain.
- Neumann, C., Harris, D. M., & Rogers, L. M. (2002). Contribution of animal source foods in improving and function in children in the developing world. *Nutrition Research*, 22(1–2), 193–220.
- Okuyama, H., & Ikemoto A. (1999). Needs to modify the fatty acid composition of meats for human health. In *Proceeding 45th international congress of meat science and technology*, (pp. 638–640), Yokohama, Japan.
- Olmedilla, B., Granado, F., Gil-Martínez, E., Blanco, I., & Rojas-Hidalgo, E. (1997). Reference values for retinol, tocopherol, and main carotenoids in serum of control and insulin dependent diabetic Spanish subjects. *Clinical Chemistry*, 43(6), 1066–1071.
- Pellett, P. L., & Young, V. R. (1990). Role of meat as a source of protein and essential aminoacids in human protein nutrition. In A. M. Pearson & T. R. Dutson (Eds.), *Advances in meat research* (Vol. 6, pp. 329–370). London: Elsevier Applied Science.
- Raes, K., Balcaen, A., Dirinck, P., De Winne, A., Claeys, E., Demeyer, D., et al. (2003). Meat quality, fatty acid composition and flavour analysis in Belgian retail beef. *Meat Science*, 65(4), 1237–1246.
- Raes, K., De Smet, S., & Demeyer, D. (2004a). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids

- and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113(1–4), 199–221.
- Raes, K., Haak, L., Balcaen, A., Claeys, E., Demeyer, D., & De Smet, S. (2004b). Effect of linseed feeding at similar linoleic acid levels on the fatty acid composition of double-muscled Belgian Blue young bulls. *Meat Science*, 66(2), 307–315.
- Ravai, M. (1995). California walnuts. The natural way to healthier heart. *Nutrition Today*, 30(4), 173.
- Sabaté, J. (1993). Does nut consumption protect against ischaemic heart disease? *European Journal of Clinical Nutrition*, 47(1), S71–S75.
- Sabaté, J., Fraser, G. E., Burke, K., Knutsen, S. F., Bennet, H., & Lindsted, K. D. (1993). Effects of walnuts on serum lipid levels and blood pressure in normal men. *New England Journal of Medicine*, 328(9), 603–607.
- Souci, S. W., Fachmann, W., & Kraut, H. (1989). *Food composition and nutrition tables 1989/90*. Germany: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart.
- Surai, P. F., & Sparks, N. H. C. (2001). Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. *Trends in Food Science and Technology*, 12(1), 7–16.
- Ulbricht, T. L. V., & Southgate, D. A. T. (1991). Coronary heart disease. 7 dietary factors. *Lancet*, 338(8773), 985–992.
- UNE-EN ISO 5509 (2000). Aceites y grasas de origen vegetal. Preparación de ésteres metílicos de ácidos grasos. Asociación Española para la Normalización y Certificación (AENOR).
- USDA (2004). Agricultural Food Research. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 17. Available from <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR17/reports/sr17fg13.pdf>. Accessed 28/10/2004.
- WHO (2003). *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases*. WHO Technical report Series 916.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., et al. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66(1), 21–32.

SECCIÓN III

ESTABILIDAD DURANTE LA CONSERVACIÓN.

RESUMEN DE LOS CAPÍTULOS.

La **SECCIÓN III** recoge diversos estudios realizados con el fin de abordar el tercer objetivo específico planteado.

Capítulo III.1. Aminas biógenas en productos reestructurados, en función de la presencia de nuez y la conservación en refrigeración. “*Biogenic amines in restructured beef steaks as affected by added walnuts and cold storage*”. *Journal of Food Protection*, 67 (3) (2004): 607-609.

En este estudio se evaluó la formación de aminas biógenas y su relación con el crecimiento microbiano en filetes reestructurados de vacuno, elaborados mediante un sistema de gelificación con MTG/C (0,7/3 %), sin sal y con diferentes cantidades de nuez incorporada (0, 10 y 20 %), durante su conservación en refrigeración (6 días a 3 °C) (Figura III.5). Para tal fin se analizó la composición, pH, desarrollo microbiano (viables totales, bacterias ácido lácticas y *Enterobacteriaceae*) y la formación de aminas biógenas (Figura III.5). De igual modo, se determinaron las propiedades físico-químicas tales como color, pérdidas de peso por conservación, cocción y totales y textura. Los resultados de esta parte del estudio están recogidos en el **capítulo I.3** (Figura III.3).

Los resultados mostraron que la incorporación de nuez y la conservación en refrigeración, favorecieron ($P < 0,05$) el crecimiento de bacterias viables totales y ácido lácticas, mientras que el crecimiento de *Enterobacteriaceae* no se vio modificado ($P > 0,05$). Las mayores concentraciones de aminas biógenas iniciales correspondieron a espermidina, espermina y tiramina. Además, tanto la nuez incorporada como la refrigeración, favorecieron ($P < 0,05$) la formación de aminas (tiramina, histamina, putrescina y cadaverina), que aparecieron hacia el final del periodo de conservación. La agmatina no se vio afectada ($P > 0,05$) por la incorporación de nuez.

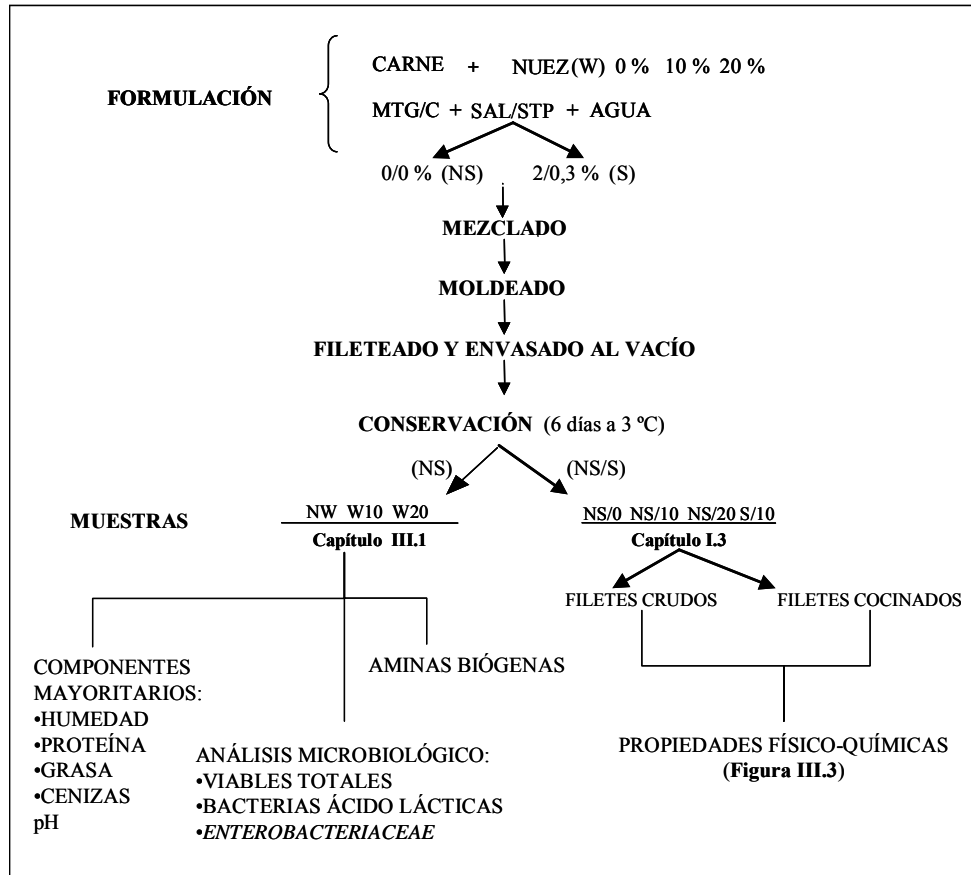


Figura III.5. Diseño del experimento y parámetros evaluados para el estudio de la estabilidad del producto en refrigeración.

Capítulo III. 2. Características de filetes reestructurados de vacuno con diferentes proporciones de nuez durante la conservación en congelación.
 “Characteristics of restructured beef steak with different proportions of walnut during frozen storage”. *Meat Science*, 72 (2006): 108-115.

El experimento contenido en este capítulo se desarrolló con el fin de evaluar como la conservación en congelación (-20 °C), durante un período de 128 días, condiciona las características de un producto reestructurado con diferentes concentraciones de nuez (0, 10 y 20 %) (Figura III.6). Para ello se determinó la composición, diversas características físico-químicas tales como pérdidas de peso por descongelación y cocción, cambios dimensionales, textura, color y oxidación lipídica, y los parámetros sensoriales (Figura III.6).

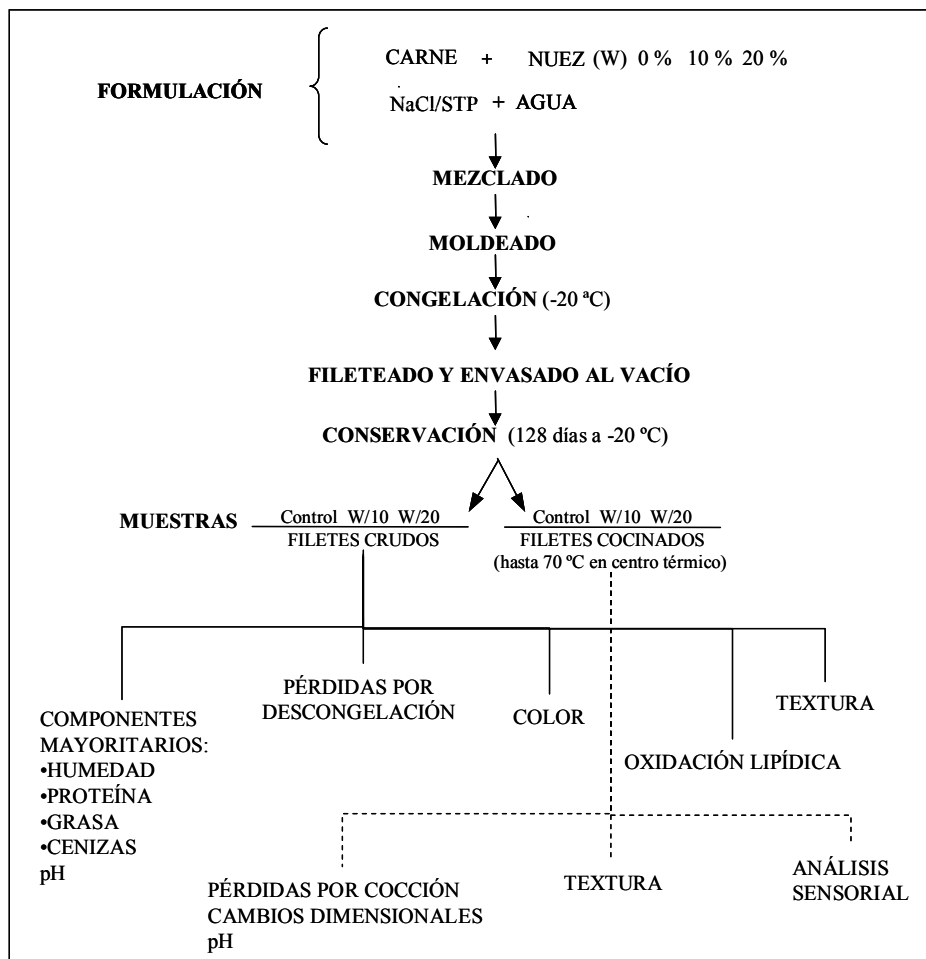


Figura III.6. Diseño del experimento y parámetros evaluados para el estudio de la estabilidad del producto en congelación.

Los resultados demostraron que las pérdidas de peso por cocción (CL), KSF y BS de los reestructurados disminuyeron ($P < 0,05$) al incrementar la concentración de nuez. Asimismo, la presencia de nuez aumentó ($P < 0,05$) los parámetros de color “L*” y “b*”, mientras que “a*” disminuyó ($P < 0,05$), tanto por la incorporación de nuez como durante el periodo de conservación. Por otro lado, con independencia del tipo de formulación, la conservación en congelación no afectó ($P > 0,05$) los parámetros CL, KSF y BS de los filetes reestructurados de vacuno. La oxidación lipídica no fue un factor limitante de la estabilidad en congelación de estos productos. En las condiciones ensayadas, la conservación no tuvo efectos ($P > 0,05$) sobre las propiedades sensoriales de los filetes reestructurados, los cuales mostraron niveles adecuados de aceptabilidad al cabo de 92 días de congelación.

Capítulo III.1

Aminas biógenas en productos reestructurados, en función de la presencia de nuez y la conservación en refrigeración.

“Biogenic amines in restructured beef steaks as affected by added walnuts and cold storage”.

Este capítulo corresponde a una publicación de la revista *Journal of Food Protection*, 67 (3) (2004): 607-609.

Research Note

Biogenic Amines in Restructured Beef Steaks as Affected by Added Walnuts and Cold Storage

C. RUIZ-CAPILLAS,* S. COFRADES, A. SERRANO, AND F. JIMÉNEZ-COLMENERO

Department of Science and Technology of Meat and Fish Products, Instituto del Frío (CSIC), José Antonio Novais 10, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, Spain

MS 03-169: Received 22 April 2003/Accepted 18 September 2003

ABSTRACT

This article evaluates changes in biogenic amines and how these relate to microbiological growth in chilled, fresh restructured beef steaks containing transglutaminase as a cold binding agent and different amounts of walnut. Added walnut and chilling favored higher total and lactic acid bacteria counts during storage, whereas *Enterobacteriaceae* were not affected. The highest initial biogenic amine concentrations were identified as spermidine, spermine, and tyramine. Both added walnut and cold storage generally favored the formation of amines (tyramine, histamine, putrescine, and cadaverine), which was more obviously apparent by the end of the storage period. Agmatine, on the other hand, was not generally affected by the walnut.

Biogenic amines are compounds that have been detected in a large variety of foods, including meat and meat products. There is evidence that the consumption of products containing high biogenic amine concentrations can entail a toxicological risk (15). In normal circumstances, the human body is able to rapidly detoxify histamine and tyramine absorbed from foods. Nevertheless, the detoxifying mechanisms are sometimes upset, and biogenic amines, especially tyramine and histamine, may build up in the body and could cause serious toxicological problems (15). Putrescine and cadaverine, although not considered toxic individually, can enhance the effect of histamine and tyramine by interacting with amino-oxidases and interfering with the detoxifying mechanism (2). Meat also contains high concentrations of endogenous biogenic amines like spermidine and spermine, which are important for physiological processes in live animals, play important roles in cellular metabolism and regeneration, and are also implicated in growth and differentiation processes (2). However, the presence of most biogenic amines is generally due to decarboxylation of free amino acids by amino acid decarboxylases of microbial origin. The microorganisms that produce them are therefore of interest (8). Nevertheless, biogenic amine production is also influenced by other factors such as the raw material, the amount and availability of free amino acids, storage or processing procedures, or incorporation of additives in meat products (8, 11).

Restructured meats are increasingly popular and possess numerous important advantages for the meat industry (4). A restructured steak, containing added walnut for the fresh market (using microbial transglutaminase and caseinate), has been produced with acceptable physicochemical

and sensory properties. Because of their composition, characteristics (structural disintegration), and manufacturing process, fresh restructured meats can contain high levels and many types of microorganisms that potentially favor the formation of biogenic amines.

The objective of this article was to evaluate microbiological growth and the production of biogenic amines during cold storage of restructured beef steak made using microbial transglutaminase as a cold-binding agent and different concentrations (0, 10, and 20%) of added walnut.

MATERIALS AND METHODS

Meat preparation and additives. Select beef top rounds (15 kg) were trimmed of fat and connective tissue and cut into strips (approximately 5 by 4 by 20 cm). Lots of approximately 1.2 kg were vacuum packed, frozen to -20°C , and stored at that temperature until use.

The following additives were used for preparation of restructured beef: sodium caseinate (Anvisa, Arganda del Rey, Madrid, Spain) and microbial transglutaminase (Activa WM, Ajinomoto Co., Inc., Kawasaki, Japan). Walnut, ground to a particle size of <0.8 mm, was supplied by the Bernardo Josa Quilez factory (Valencia, Spain).

Product preparation. For the preparation of restructured beef steak, meat packages were thawed (approximately 18 h, $3 \pm 2^{\circ}\text{C}$, reaching between -3 and -5°C) and passed once through a grinder (Mainca, Granollers, Spain) with a 2-cm plate. Three different products were formulated with water (400 g), microbial transglutaminase (28 g), caseinate (120 g), and different concentrations of walnut, i.e., 10%, 20%, and no walnut, and beef in different amounts to obtain products of 4,000 g. The procedure was as follows. Meat was mixed for 1 min in a mixer (Mainca); half of the water was added and the whole mixed again for 1 min; sodium caseinate was sprinkled on and the whole mixed again for 2 min; transglutaminase was dissolved in the remaining water in an Omnimixer (Omni International, Waterbury, Conn.); this solution was added to the meat mix and the whole mixed again for

* Author for correspondence. Tel: 34 915445607; Fax: 34 915493627; E-mail: claudia@if.csic.es.

TABLE 1. Proximate analysis (%) of restructured beef steaks^a

Samples	Moisture	Protein	Fat	Ash
NW	74.0 A	22.2 A	2.2 A	1.0 A
W10	67.7 B	20.8 B	8.3 B	1.2 B
W20	60.8 C	19.2 C	13.6 C	1.1 AB
SEM	0.17	0.13	0.28	0.03

^a Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM, standard error of the mean; NW, no walnut; W10, 10% walnut; W20, 20% walnut.

2 min. Finally, walnut was added and the whole mixed again for 2 min. Mixing time was standardized at 8 min.

Each batch was placed in metal molds (1.25 kg) and stored at 3°C overnight to allow microbial transglutaminase action. The molds were kept at -18°C (12 h) until the samples were firm enough to be sliced (Mainca) into steaks (140 ± 3 g; 1.0 ± 0.05 cm thick). Each steak, vacuum packed and stored at 3°C, was evaluated 18 h after packaging (initial) and at 2 and 6 days.

Proximate analysis. Moisture and ash content of the raw samples were determined (1) in quadruplicate. Lipid (in duplicate) and protein content (in quadruplicate) were measured respectively by the Bligh and Dyer method (3) and by a LECO FP-2000 Nitrogen Determinator (Leco Corporation, St Joseph, Mo.).

Microbiological analysis. Ten grams of each sample was placed in a sterile plastic bag with 90 ml of peptone water (0.1%) with 0.85% NaCl. After 2 min in a blender (Stomacher Colworth 400, Seward, UK), appropriate decimal dilutions were pour plated (1 ml) on the following media: plate count agar (Merck, Germany) for total viable count (30°C for 72 h); deMan Rogosa Sharp agar (Merck, Darmstadt, Germany) for lactic acid bacteria (30°C for 3 to 5 days); and violet red bile glucose agar (Merck) for *Enterobacteriaceae* (37°C for 24 h). All microbial counts were converted to log CFU/g.

Analysis of biogenic amines by ion-exchange chromatography. Tyramine, histamine, putrescine, cadaverine, agmatine, spermidine, and spermine were determined in an extract prepared by blending 25 g of each sample with 50 ml of 7.5% trichloroacetic acid in an ultraturrax homogenizer (IKA-Werke, Janke & Kunkel, Staufen, Germany) (20,000 rpm, 3 min) and centrifuged at 5,000 rpm for 15 min at 4°C in a desktop centrifuge (Sorvall RTB6000B, DuPont, Big Lake, Minn.). The supernatant fluids were filtered through a 0.45- μ m Millipore filter, and 10 μ l of this filtrate was injected into a high-performance liquid chromatography model 1022 with a pickering PCX 3100 postcolumn system (Pickering Laboratories, Mountain View, Calif.), following the method of Ruiz-Capillas and Moral (12). Results are averages of at least three replicates.

Statistical analysis. The results were analyzed statistically using the Statgraphic 2.1 program (STSC, Rockville, Md.) for two-way ANOVA. The means for data pairs were calculated using confidence intervals according to the least significance difference range test significance level $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Addition of walnut gradually increased ($P < 0.05$) fat values and reduced ($P < 0.05$) moisture and protein values (Table 1). These results are consistent with meat product formulations (Table 1) where meat was replaced by walnut.

Microbiological analysis. The total viable count concentrations in the samples were in the region of 6 log CFU/g

TABLE 2. Changes in the microorganism content in restructured beef steaks^a

Microorganisms	Samples	Days of storage		
		Initial	2	6
Total viable count	NW	6.0 AX	6.9 BX	7.3 CX
	W10	5.7 AX	6.9 BX	7.7 CY
	W20	6.0 AX	7.0 BX	7.7 CY
Lactic acid bacteria	NW	5.2 AX	5.8 BX	7.1 CX
	W10	4.7 AX	5.8 BX	7.4 CY
	W20	5.0 AX	5.9 BX	7.6 CY
<i>Enterobacteriaceae</i>	NW	3.0 AX	3.9 BX	3.4 BX
	W10	<3 AX	3.7 BX	3.5 BX
	W20	3.2 AX	3.8 BX	3.6 BX

^a Different letters in the same row (A through C) and in the same column (X and Y) indicate significant differences ($P < 0.05$). NW, no walnut; W10, 10% walnut; W20, 20% walnut. Microbial counts are expressed as log CFU/g.

g (Table 2), and the dominant flora in all samples were lactic acid bacteria with 5.2 log CFU/g in the no-walnut sample, possibly connected to the fact that the steaks had been chilled and vacuum stored 18 to 20 h prior to initial analysis. *Enterobacteriaceae* did not exceed 3.2 log CFU/g in any of the samples studied (Table 2). Bradford et al. (5) and Egbert et al. (7) observed total viable counts of 6.7 and 5.3 log CFU/g in pork sausage patty and ground beef, respectively. The presence of walnut did not affect ($P > 0.05$) the initial microbial count in restructured beef steak (Table 2).

Irrespective of the formulation, total count and lactic acid bacteria counts increased significantly ($P < 0.05$) during chilled storage, reaching a maximum of 7.7 and 7.6 log CFU/g, respectively (Table 2). This may be related to vacuum packaging, which can favor the growth of lactic acid bacteria to the detriment of other spoilage bacteria such as pseudomonads. Cold storage (2 days) favored ($P < 0.05$) *Enterobacteriaceae* growth, if only slightly (Table 2).

The influence of walnut on microbial counts in restructured beef steak was appreciable after 6 days of storage, when the highest total count and lactic acid bacteria counts ($P < 0.05$) were found in the samples containing walnut. However, this influence was not affected ($P > 0.05$) by the actual percentage added (Table 2) because there is no obvious relationship between initial microorganism concentrations and the percentage of added walnut (Table 2).

Biogenic amines. Spermine, at around 40 mg/kg, was the amine with the highest initial concentrations in the three formulated products (Table 3). Spermidine concentrations were also high (5.74 mg/kg in the 20% concentration of walnut sample). Initial tyramine levels were between 7.18 and 8.27 mg/kg (Table 3), comparable with the levels reported by other authors in beefburger or ground beef after several days in storage at 4°C (13). Cadaverine was the only amine considered that was not detected initially, the rest being present in very small concentrations (Table 3). This is consistent with the findings of others, e.g., Hernandez-Jover et al. (9) and Sayen-El-Daher et al. (13) detected no

TABLE 3. Changes in the biogenic amines content (mg/kg) in restructured beef steaks^a

Biogenic amines	Samples	Days of storage		
		Initial	2	6
Tyramine	NW	8.27 AX	51.48 BX	75.23 CX
	W10	7.18 AY	57.09 BY	116.54 CY
	W20	8.16 AX	62.65 BZ	154.49 CZ
Histamine	NW	1.04 AX	1.22 AX	8.85 BX
	W10	1.59 AX	1.78 AX	9.40 BX
	W20	0.91 AX	1.88 AX	11.48 BY
Putrescine	NW	0.52 AX	0.47 AX	1.52 BX
	W10	1.09 AY	1.15 AY	10.22 BY
	W20	1.37 AZ	1.69 BZ	18.92 CZ
Cadaverine	NW	Nd AX	0.24 AX	1.38 BX
	W10	Nd AX	1.77 BY	14.40 CY
	W20	Nd AX	1.58 BY	18.42 CZ
Agmatine	NW	0.61 AX	1.03 AX	2.75 BX
	W10	0.76 AX	0.89 AX	2.43 BX
	W20	0.63 AX	2.23 BY	2.48 BX
Spermidine	NW	1.63 AX	1.28 AX	1.56 AX
	W10	3.25 AY	3.55 AY	3.96 AY
	W20	5.74 AZ	6.04 AZ	6.63 AZ
Spermine	NW	39.15 AX	35.35 BX	39.76 AX
	W10	43.05 AY	41.62 AY	36.74 BY
	W20	40.84 AY	39.04 AZ	33.89 BZ

^a Different letters in the same row (A through C) and in the same column (x through z) indicate significant differences ($P < 0.05$). NW, no walnut; W10, 10% walnut; W20, 20% walnut.

cadaverine in raw beef and raw ground beef but did detect low concentrations of histamine and putrescine.

The concentrations of most of the biogenic amines increased ($P < 0.05$) in the course of storage (Table 3). For instance, tyramine increased ($P < 0.05$) progressively, to between 8 and 19 times the initial concentration at the end of 6 days (Table 3). Histamine, putrescine, cadaverine, and agmatine also increased but generally only significantly so by the end of the experimental period (Table 3). There were quantitatively minor increases in spermidine and spermine.

The first initial sign of the effect of adding walnut was that spermidine, spermine, and putrescine content increased ($P < 0.05$) with the percentage of nonmeat ingredient (Table 3). Over the storage period, the presence of walnut generally favored the formation of tyramine, histamine, putrescine, and cadaverine, this effect being most noticeable at the end of storage (Table 3). Agmatine, on the other hand, was unaffected ($P > 0.05$) by the walnut, while in its presence, spermine levels had dropped by the end of storage (Table 3).

The presence of some biogenic amines in restructured beef steak seems to be connected with both the amount and the type of microorganisms, and the amine profile is dependent on the type of packaging. The high levels of tyramine found in the various lots in the present assay (Table 3) are likewise thought to be related to high lactic acid bacteria counts (Table 2). Masson et al. (10) also observed that *Lactobacillus curvatus*, *L. plantarum*, and *Carnobacterium* were all responsible for the formation of tyramine in raw pork. Edwards et al. (6) reported that, during vac-

uum-packaged storage of beef, the combined activities of lactic acid bacteria and *Enterobacteriaceae* were required for putrescine formation, while the source of cadaverine was *Enterobacteriaceae*. In our own study, low concentrations of histamine, cadaverine, and putrescine coincided with low *Enterobacteriaceae* counts (Table 2).

In general, in this study, the formation of biogenic amines and growth of the microbial population were favored by the addition of walnut and by cold storage. There were high concentrations of the amines spermidine and spermine, which together with the addition of walnut has a potential health benefit (2). On the other hand, the production of potentially toxic biogenic amines was generally low; however, further research is needed into tyramine, which was present in proportionally higher concentrations than the rest and for a longer storage period.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported under project AGL2001-2398-C03-01, Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+I), Ministerio de Ciencia y Tecnología. Ruiz-Capillas acknowledges funding support from the Ministry of Science and Technology (Project Ramón y Cajal).

REFERENCES

1. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1984. Official methods of analysis. AOAC, Washington, D.C.
2. Bardóc, S., T. J. Duguid, D. Brown, G. Grant, A. Pusztai, A. White, and A. Ralph. 1995. The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth. *Brit. J. Nutr.* 73:819-828.
3. Blight, E. G., and W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Phys.* 37:911-917.
4. Boles, J. A., and P. J. Shand. 1999. Effects of raw binder system, meat cut and prior freezing on restructured beef. *Meat Sci.* 53:233-239.
5. Bradford, D. D., D. L. Huffman, W. R. Egbert, and W. R. Jones. 1993. Low-fat fresh pork sausage patty stability in refrigerated storage with potassium lactate. *J. Food Sci.* 58:488-491.
6. Edwards, R. A., R. H. Dainty, C. M. Hibard, and S. V. Ramantanis. 1987. Amines in fresh beef of normal pH and the role of bacteria in changes in concentration observed during storage in vacuum packs at chill temperatures. *J. Appl. Bacteriol.* 63:427-434.
7. Egbert, W. R., D. L. Huffman, C. M. Chen, and W. R. Jones. 1992. Microbial and oxidate changes in low-fat ground beef during simulated retail distribution. *J. Food Sci.* 57:1269-1293.
8. Halász, A., A. Baráth, L. Simon-Sarkadi, and W. Holzapfel. 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci. Tech.* 5:42-49.
9. Hernández-Jover, T., M. Izquierdo-Pulido, M. T. Veciana-Nogues, and M. C. Vidal-Carou. 1996. Ion-pair high performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in meat and meat products. *J. Agr. Food Chem.* 44:2710-2715.
10. Masson, E., R. Talon, and M. C. Montel. 1996. Histamine and tyramine production by bacteria from meat products. *Int. J. Food Microbiol.* 32:199-207.
11. Ruiz-Capillas, C., and F. Jiménez-Colmenero. 2003. Biogenic amines in meat and meat products. *Crit. Rev. Food Sci.*, in press.
12. Ruiz-Capillas, C., and A. Moral. 2001. Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for hake (*Merluccius merluccius*, L.) stored in ice. *J. Food Sci.* 66:1030-1032.
13. Sayem-El-Daher, N., R. E. Simard, and J. Fillion. 1984. Changes in the amine content of ground beef during storage and processing. *Lebensm. Wiss. Technol.* 17:319-323.
14. Serrano, A., S. Cofrades, and F. Jiménez Colmenero. Transglutaminase as binding agent in fresh restructured beef steak with added walnuts. Submitted for publication.
15. Taylor, S. L. 1985. Histamine poisoning associated with fish, cheese, and other foods. Monografía (VPH/FOS/85.1), World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Capítulo III. 2

Características de filetes reestructurados de vacuno con diferentes proporciones de nuez durante la conservación en congelación.

“Characteristics of restructured beef steak with different proportions of walnut during frozen storage”

Este capítulo corresponde a una publicación de la revista *Meat Science*, 72 (2006): 108-115.

Characteristics of restructured beef steak with different proportions of walnut during frozen storage

A. Serrano, S. Cofrades^{*}, F. Jiménez-Colmenero

Instituto del Frío (CSIC), C/José Antonio Novais, 10, Ciudad Universitaria, 28040-Madrid, Spain

Received 10 February 2005; received in revised form 13 June 2005; accepted 13 June 2005

Abstract

Physicochemical (thawing loss, cooking loss, surface shrinkage, texture, colour and lipid oxidation) and sensory properties of restructured beef steak with different levels of added walnut (0%, 10% and 20%) were determined at various times during frozen storage up to 128 days. Cooking loss (CL), Kramer shear force (KSF) and binding strength (BS) of restructured beef decreased ($P < 0.05$) as the proportion of walnut increased. Walnut enhanced ($P < 0.05$) lightness and yellowness and reduced ($P < 0.05$) redness. Frozen storage did not affect ($P > 0.05$) CL, KSF and BS of restructured beef steak. Redness decreased ($P < 0.05$) over storage for all samples. Lipid oxidation of restructured beef steak containing walnut was not a limiting factor for frozen stability of meat products. Frozen storage had no effect ($P > 0.05$) on the sensory quality of restructured beef steak.

© 2005 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Restructured beef steak; Walnut; Frozen storage; Physicochemical characteristics; Lipid oxidation; Sensory evaluation

1. Introduction

The meat industry is changing rapidly, impelled by changes in food technology and demand, among other factors. Functional foods belong to a category of products that clearly respond to consumer preferences. Since their effects are a consequence of functional components, most of which are of vegetable origin and some of which are not consumed in the recommended amounts or with the recommended frequency, a good way to increase dietary intake is to incorporate them into common foods. As one of those most widely consumed foods, meat then would appear to be an excellent vehicle for their delivery. There are a number of ways to alter the presence of different functional components so as to produce meat-based functional foods. Restructured meats have been developed to produce new products that can be adapted to consumer needs in terms of

convenience, portion size, composition and ease preparation, by changing the ingredients employed in their preparation (Esguerra, 1994).

Various authors have tried modifying the ingredients used to make meat products so as to enhance health-beneficial components (Jiménez Colmenero, Carballo, & Cofrades, 2001; Kim, Godber, & Prinaywiwatkul, 2000; Lee, Hendricks, & Cornforth, 1998). With strategies of this kind, restructured beef steaks with added walnuts have been formulated to produce products with acceptable physicochemical and sensory properties (Cofrades et al., 2004; Jiménez Colmenero et al., 2003). Products of this kind would help foster systematic intake of adequate amounts of walnut over long periods of time. It has been reported that walnuts as part of a heart-healthy diet may reduce the risk of coronary heart disease (FDA, 2004; Feldman, 2002; Iwamoto et al., 2000; Sabaté, 1993). This effect has been associated with the peculiar blend of nutrients and phytochemical compounds found in walnuts. In fact 100 g of restructured steak with added 20% walnut could provide almost half

^{*} Corresponding author. Fax: +34 91 549 3627.

E-mail address: scofrades@if.csic.es (S. Cofrades).

(47%) of the daily amount (42.5 g) stipulated by the FDA (2004) to qualify for a health claim on product labels regarding walnut and the reduced risk of coronary heart disease.

Meat products are often stored at freezing temperatures to extend shelf-stability for purchasing and distribution purposes. Freezing and frozen storage can cause chemical and structural changes in products, depending on their characteristics (meat source, amount and type of lipids, presence of cryoprotectants, antioxidant status, protective packaging used, etc.) and storage conditions (temperature, duration, temperature fluctuations, etc.). Such changes, which occur largely as a result of alterations in the characteristics of proteins (denaturation and aggregation) and lipids (oxidation), have undesirable effects on many product characteristics such as texture, fat and water binding properties, colour, etc., which reduce the quality and shelf life of meat products (Awad, Powrie, & Fennema, 1968; Bhattacharya, Hanna, & Mandigo, 1988a; Bhattacharya, Hanna, & Mandigo, 1988b; Miller, Ackerman, & Palumbo, 1980).

The reformulation of meat products to enhance health-beneficial components, as in the case of added walnut, produces qualitative and quantitative changes in the composition (protein, lipids and others components) of meat products (Serrano et al., 2005). Some of these changes can influence the product's response to different technological treatments, and hence its frozen stability. Given the need to explore the potential implications of these changes for product frozen stability, this work was undertaken with the objective of investigating product characteristics (cooking loss, dimensional changes, thawing loss, texture, lipid oxidation and sensorial properties) of restructured beef steak with different levels of added walnut (0%, 10% and 20%) as they are affected by frozen storage.

2. Materials and methods

2.1. Preparation of products

Select beef top rounds (26 kg) were trimmed of visible fat and connective tissue and cut into strips (approx. $5 \times 4 \times 20$ cm). Lots of approx. 1.2 kg were vacuum-packed, frozen to -18 ± 2 °C and stored at that temperature until use.

For the preparation of restructured beef steak, meat packages were thawed (approx. 18 h 3 ± 2 °C, reaching between -3 and -5 °C) and passed once through a grinder (Mainca, Granollers, Spain) with a 2 cm plate. Three different restructured beef steaks (Table 1) containing 0% (control), 10% (W/10) and 20% (W/20) added walnut (ground down to a particle size of <0.8 mm, supplied by Bernado Josa Quilez, Valencia, Spain) were prepared according to Cofrades et al. (2004). In the

Table 1
Formulations of restructured beef steak containing 0% (control), 10% (W/10) and 20% (W/20) added walnut

Samples	Beef (g)	Salt + STP (g)	Walnut (g)	Water (g)	Total (g)
Control	3508	80 + 12	0	400	4000
W/10	3108	80 + 12	400	400	4000
W/20	2708	80 + 12	800	400	4000

STP = sodium tripolyphosphate.

formulation of the W/10 and W/20 samples, the added walnut replaced an equal percentage of meat raw material. Restructured steaks (140 ± 3 g; 1.0 ± 0.054 cm thick) were frozen, packed individually in vacuum bags (Cryovac® BB4L, oxygen permeability $30 \text{ cm}^3/\text{m}^2 \text{ 24 h}^{-1}$ at 23 °C, 0% RH and 1 bar) and stored at -18 ± 2 °C. They were randomly selected for analysis at intervals for up to 128 days.

2.2. Proximate composition and pH

Moisture and ash content of the raw samples were determined (AOAC, 2000 methods No. 950.46 and 923.03, respectively) in quadruplicate. Fat content was evaluated (in triplicate) according to Bligh and Dyer (1959). Protein content was measured in quadruplicate according to the AOAC (2000), method No. 992.15, by a Nitrogen Determinator LECO FP-2000 (Leco Corporation, St Joseph, MI, USA).

Raw and cooked products were prepared for pH analysis in triplicate by blending 10 g sample in 100 ml distilled water. A pH meter (Radiometer PHM 93, Copenhagen, Denmark) was used to determine pH.

2.3. Thawing loss, cooking loss and surface shrinkage

Portions of $5 \times 5 \times 1$ cm, were prepared from three frozen restructured beef steaks per formulation. These portions were thawed (5 h, 3 °C) and manually wiped with a paper towel to remove visible exudate. Thawing loss (TL) was calculated as weight loss (%).

Three frozen restructured beef steaks from each formulation were cooked on both sides simultaneously in a contact grill (Princess classic multigrill type 2321, Netherlands) for 3 min to a core temperature of 70 °C, determined beforehand by inserting thermocouples which were connected to a temperature recorder (Yokogawa Hokushin Electric YEW, Mod. 3087, Tokyo, Japan). After 30 min at room temperature (20–22 °C), steaks were manually wiped with a paper towel to remove visible exudate. Cooking loss (CL) was calculated as weight loss (%).

The surfaces of the steaks were measured before and after cooking using a drawing computer program, AutoCAD 2000 (Autodesk Inc., San Rafael, CA,

USA). Surface shrinkage (SS) was calculated as surface change (%) due to cooking.

2.4. Textural properties

Six portions ($5 \times 5 \times 1$ cm) per formulation (prepared as for thawing loss) were used to assess the ability of the meat pieces to adhere to one another (bind strength), in a procedure similar to that of Field et al. (1984). Bind strength (BS) was measured as the peak force (N) required for a 1.9 cm ball, at a cross-head speed of 100 mm/min (in a 250 N load cell), to break through a meat slice mounted on a ring of 3.2 cm inner diameter.

Six portions of $6 \times 1 \times 1$ cm from three raw restructured beef steaks per formulation were used to measure Kramer shear force (KSF) with the Kramer shear attached to a 250 N load cell (cross-head speed 120 mm/min). KSF was expressed as maximum load per gram of sample (N/g).

The same texture analyses were carried out on identical portions ($5 \times 5 \times 1$ cm and $6 \times 1 \times 1$ cm) prepared from cooked restructured steaks (prepared as for cooking loss). Both textural determinations (BS and KSF) were carried out on a TA-XT2 Texture Analyser (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY, USA).

2.5. Surface colour

Surface colour (lightness, L^* ; redness, a^* and yellowness, b^*) of raw samples was evaluated on a HunterLab model D25-9 (D45/2°) (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA, USA). Before each measuring session the instrument was calibrated against a white reference. Colour determinations were performed immediately before bind strength analysis on the same portions ($5 \times 5 \times 1$ cm). Six portions were made per formulation and six determinations per piece (three from each surface).

2.6. Lipid oxidation

Oxidative stability was evaluated by changes in thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) over frozen storage. The procedure for measurement of TBARS was based on methods used by Pikul, Leszczynski, and Kummerow (1989) and Witte, Krause, and Bailey (1970). The incubation conditions (at room temperature) for 2-thiobarbituric acid (TBA) and TBARS were studied first to avoid interfering reactions caused by the presence of walnut. At room temperature these reactions are more specific and selective (Witte et al., 1970), and interfering colourings can be reduced in the case of methods entailing boiling temperature (Wang, Pace, Dessai, Bovel-Benjamin, & Phillis, 2002). Briefly, the procedure was as follows: 2 g of each sample was homogenized in 8 ml of 5% trichloroacetic acid (TCA) for 90 s at high speed in an Ultraturrax blender (Ika-Werke, GmbH & Co, Stau-

fen, Germany). The blender sample was filtered through Whatman No. 1 paper and the filtrate adjusted to 10 ml with 5% TCA. An aliquot of 5 ml of filtrate was transferred to a tube followed by 5 ml of 20 mM aqueous of TBA. The tube was stopped and the solution was mixed and kept in the dark for 20 h at 20 ± 1.5 °C. The resulting colour was measured at 532 nm in a UV/VIS Spectrophotometer (Perkin–Elmer Lambda 15, Boston, USA). A standard curve was constructed with 1,1,3,3-tetraethoxypropane (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) as described by Botsoglou et al. (1994). The determination was done in triplicate and the TBARS value was expressed as mg of malonaldehyde/kg of sample.

2.7. Sensory evaluation

Sensory analysis was performed as described by Jiménez Colmenero et al. (2003). Panellists were asked to evaluate: flavour, off-flavour, texture, and overall acceptability. Samples were evaluated at 1 and 92 days of storage time.

2.8. Statistical analysis

Data were analysed using Statgraphics Plus 2.1 (STSC Inc., Rockville, MD, USA) for one- and two-way ANOVA. The least squares method was used to compare mean values among treatments and the Tukey HSD test was used to identify significant differences ($P < 0.05$) among main effects (walnut proportion and time of storage).

3. Results and discussion

3.1. Proximate composition and pH

Added walnut significantly affected the proximate composition of restructured beef steak (Table 2). The addition of walnut increased ($P < 0.05$) fat values and reduced ($P < 0.05$) moisture (in the same proportion in which fat was increased) and protein content. Ash content did not change ($P > 0.05$) when walnut was added. The proximate composition of samples was consistent with meat product formulations where meat is replaced by added walnut (Table 1).

Addition of walnut caused slight but significant increases in pH values of uncooked and cooked samples (Table 2). Cooking-induced increase of pH was observed for all restructured beef steaks. Frozen storage did not affect ($P > 0.05$) pH in any of the restructured beef steak samples, and therefore Table 2 simply shows the mean pH value over the storage period. The pH of restructured beef steak (Esguerra, 1994) or ground pork (Brewer & Harbers, 1991) has been reported to increase slightly with frozen storage, although not to a practically significant extent.

Table 2
Proximate composition (%) of uncooked restructured beef steak and pH of uncooked and cooked restructured beef steak^a

Samples	Moisture	Protein	Fat	Ash	pH ^b	
					Uncooked	Cooked
Control	74.69 ₁	20.56 ₁	2.34 ₁	3.13	5.84 ₁	6.03 ₁
W/10	68.08 ₂	19.78 ₂	9.05 ₂	3.12	5.95 ₂	6.15 ₂
W/20	61.12 ₃	19.56 ₂	14.52 ₃	3.18	6.03 ₃	6.19 ₃
SEM	0.30	0.20	0.27	0.06	0.00	0.00

^a For sample denomination see Table 1. Different numbers in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean.

^b Means over frozen storage period.

3.2. Thawing loss, cooking loss and surface shrinkage

Irrespective of composition, restructured beef steaks presented low levels of thawing loss (<1%) (Table 3), similar to those reported by other authors for similar products (Jiménez Colmenero et al., 2003; Raharjo et al., 1995). Thawing loss generally increased ($P < 0.05$) during frozen storage, although the practical significance of this was slight. Increases of TL over time in frozen storage had previously been reported in ground beef and ground pork (Bhattacharya et al., 1988a; Brewer & Harbers, 1991).

The influence of walnut proportion and frozen storage on cooking loss is described in Table 4. Since frozen storage did not affect ($P > 0.05$) cooking loss for each sample, the mean value of CL over storage was reported. Product cooking losses (Table 4) were highest (34%) for the control sample. Cooking loss decreased ($P < 0.05$) as the proportion of walnut increased (Table 4). This behaviour, already reported elsewhere (Cof-

rades et al., 2004; Jiménez Colmenero et al., 2003), may be related to loss of moisture (and increase of fat content) and dilution of meat protein in products as more walnut is added. While some authors have reported increased cooking losses in frozen meat products with increased length of frozen storage (Bhattacharya et al., 1988a; Jacobs & Sebranek, 1980; McMillin, Bidner, Felchle, Dugas, & Koh, 1991), as in this experiment (Table 4) it has also been reported that frozen storage did not affect the cook yields of restructured beef steak (Esguerra, 1994). The effect of frozen storage on cooking loss (and on other physicochemical properties) depends on product characteristics and storage conditions.

Surface shrinkage is important in maintaining quality standards of beef steak, and the impact of added walnut must therefore be evaluated in this connection. The surface of all steaks decreased after cooking, by between 12.5% and 21.2% (Table 4). There was less surface shrinkage of restructured steak ($P < 0.05$) as the walnut content was increased. Frozen storage did not affect ($P > 0.05$) SS in any restructured beef steak samples, and therefore Table 4 shows only their mean values over the storage period. The behaviour of sample shrinkage on cooking as affected by formulation and storage time was similar to that observed for CL (Table 4). Changes of cooking loss in restructured steak may be responsible for the differences in the dimensions of cooking changes.

3.3. Textural properties

Since textural properties were not influenced ($P > 0.05$) by frozen storage, Table 4 shows only the mean values of each parameter over the storage period.

Table 3
Thawing loss (%) of restructured beef steak^A as affected by walnut content and frozen storage

Samples	Days in storage						
	1	16	30	50	72	92	128
Control	0.35 ₁ ^a	0.50 ₁ ^{ab}	0.69 ₁ ^b	0.54 ₁ ^{ab}	0.61 ₁ ^b	0.58 ₁ ^{ab}	0.73 ₁₂ ^b
W/10	0.24 ₁ ^a	0.53 ₁ ^b	0.54 ₁ ^b	0.59 ₁ ^b	0.62 ₁ ^b	0.64 ₁ ^b	0.58 ₁ ^b
W/20	0.32 ₁ ^a	0.60 ₁ ^b	0.61 ₁ ^b	0.99 ₂ ^{cd}	0.74 ₁ ^{bc}	0.92 ₂ ^{de}	0.87 ₂ ^{ce}
SEM	0.06						

^A For sample denomination see Table 1. Different numbers in the same column and different letters in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean.

Table 4
Means over frozen storage period of cooking loss (CL), surface shrinkage (SS), Kramer shear force (KSF) and binding strength (BS) of restructured beef steak^a

Samples	CL (%)	SS (%)	KSF (N/g)		BS (N)	
			Uncooked	Cooked	Uncooked	Cooked
Control	34.14 ₁	21.79 ₁	2.18 ₁	32.06 ₁	1.12 ₁	22.11 ₁
W/10	25.17 ₂	17.04 ₂	2.09 ₂	19.64 ₂	0.94 ₂	14.26 ₂
W/20	20.59 ₃	12.51 ₃	1.55 ₃	12.63 ₃	0.73 ₃	8.58 ₃
SEM	0.43	0.44	0.08	0.55	0.02	0.31

^a For sample denomination see Table 1. Different numbers in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean.

The proportion of walnut affected textural properties of steak (Table 4); the KSF and BS of uncooked and cooked samples decreased ($P < 0.05$) as the proportion of walnut was increased. A similar influence of walnut on textural properties of restructured beef steak has already been reported elsewhere (Cofrades et al., 2004; Jiménez Colmenero et al., 2003). This effect was attributed to a combination of several factors connected with increased fat and reduced water on the characteristics of the matrix, to the diluting effect of walnut in meat protein systems, and to possible interferences in meat protein gelation processes, all of which can to some extent limit binding between meat pieces.

Reports on the effect of frozen storage on tenderness of meat products have been contradictory (Bhattacharya et al., 1988a). The role of freezing and frozen storage in causing chemical and structural changes in product, essentially the result of changes in protein characteristics, has long been recognized. The result is a reduction in functionality (Awad et al., 1968; Miller et al., 1980), which negatively affects the quality (texture, water and fat binding properties, sensory characteristics and others) of the final processed products (Jiménez Colmenero, Carballo, & Solas, 1995; Miller et al., 1980). As such protein damage increased, water holding capacity was reduced, favouring increased cooking loss; this adversely affected shear strength of beef patties, which increased with storage time (Bhattacharya et al., 1988a). Within the parameters of this study, the negligible effect of storage on physicochemical properties (TL, CL, SS, KSF and BS) of restructured beef steak (Tables 3 and 4) reflected marginal incidence of protein damage in storage. As in this experiment, other authors have reported that frozen storage had no effect on the texture of restructured beef steak (Esguerra, 1994; Wang, Xiong, & Moody, 1999).

3.4. Surface colour

Colour evaluation was performed to detect tendencies for walnut addition and frozen storage to cause changes in beef steak. The colour of meat products is one of the prime factors by which consumers judge their acceptability. Discolouring is a major problem for marketing restructured meat products, since it reduces consumer acceptability (Chen & Trout, 1991). Walnut increased ($P < 0.05$) lightness and yellowness and reduced ($P < 0.05$) redness of raw restructured beef steak. Similar results were reported by Jiménez Colmenero et al. (2003). This effect has been attributed to the dilution of meat pigment in beef steak due to the presence of non-meat ingredients (Rocha-Garza & Zayas, 1996).

Frozen storage had no effect ($P > 0.05$) on parameters L^* and b^* , and therefore the data for each parameter over the storage period were pooled (Table 5). Storage time, on the other hand, affected a^* values, which decreased

Table 5

Colour parameters (Lightness L^* , redness a^* , yellowness b^*) of raw restructured beef steak^A as affected by added walnut and frozen storage

Samples	L^{*B}	a^*							b^{*B}
		Days in storage							
		1	16	30	50	72	92	128	
Control	33.3 ¹	12.8 ^a ₁	0.1 ^b ₁	8.6 ^c ₁	7.4 ^d ₁	6.7 ^e ₁	6.6 ^c ₁	5.9 ^f ₁	9.0 ¹
W/10	42.8 ²	11.0 ^a ₂	9.2 ^b ₂	9.0 ^b ₂	8.9 ^b ₂	7.6 ^c ₂	6.6 ^d ₂	6.2 ^d ₂	12.4 ²
W/20	46.2 ³	10.1 ^a ₃	7.3 ^b ₃	7.5 ^b ₃	7.1 ^b ₃	7.2 ^b ₁₂	7.4 ^b ₂	6.4 ^c ₁	13.3 ³
SEM	0.18				0.17				0.09

^A For sample denomination see Table 1. Different numbers in the same column and different letters in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean.

^B Means over frozen storage period.

($P < 0.05$) over storage in all samples (Table 5). Because it had higher initial and similar final (128 days) redness values to steak with added walnut, the control presented a higher relative rate of discolouring. This behaviour may be connected with differences in myoglobin content (lower in samples with walnut) and vitamin E content (higher in samples with walnut) (Serrano et al., 2005). Vitamin E seems to exert a colour-stabilizing effect by different mechanisms (Houben, van Dijk, Eikelenboom, & Hoving-Bolink, 2000). There have been different reports on the effects of frozen storage on colour stability of meat products. While it has been reported that frozen storage had no significant effect on a^* value of restructured beef steak (Esguerra, 1994), or that such changes over the storage period were variable (Chen & Trout, 1991), most studies on restructured meat have reported variations of a^* similar to those described in this experiment (Akamittath, Brekke, & Schanus, 1990; Bhattacharya et al., 1988a; Brewer & Wu, 1993; Bullock et al., 1994; Demos & Mandigo, 1996). Such a change in redness has also been reported in association with different behaviour patterns in the other colour parameters; such patterns include reduction, no change, or inconsistent changes of L^* and b^* values (Akamittath et al., 1990; Bhattacharya et al., 1988a; Brewer & Wu, 1993; Bullock et al., 1994; Chen & Trout, 1991; Demos & Mandigo, 1996).

3.5. Lipid oxidation

Lipid oxidation is a major cause of deterioration in the quality of stored meat products and can be accelerated by several factors such as increasing unsaturation, the presence of oxygen (favoured by structural disintegration), salt, etc. Changes in composition induced by the addition of walnut (Serrano et al., 2005) can affect the sensitivity of meat products to lipid oxidation.

In general, the extent of lipid oxidation during frozen storage remained relatively low (Table 6). Initially, oxidation was greater ($P < 0.05$) in restructured steak with added walnuts than in control sample, an effect that

Table 6
Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) (mg malonaldehyde/kg of sample) in restructured beef steak^A as affected by added walnut and frozen storage

Samples	Days in storage						
	1	16	30	50	72	92	128
Control	0.19 ₁ ^a	0.19 ₁ ^a	0.25 ₁ ^{ad}	0.47 ₁ ^b	1.36 ₁ ^c	0.37 ₁ ^{ab}	0.44 ₁ ^{bd}
W/10	0.48 ₂ ^{abc}	0.30 ₁ ^a	0.33 ₁ ^a	0.54 ₁ ^{bc}	0.42 ₂ ^{ab}	0.66 ₂ ^c	0.49 ₂ ^{abc}
W/20	0.61 ₂ ^c	0.66 ₂ ^c	0.67 ₂ ^c	0.58 ₁ ^a	0.80 ₃ ^c	0.78 ₂ ^c	0.50 ₂ ^c
SEM	0.05						

^A For sample denomination see Table 1. Different numbers in the same column and different letters in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean.

may have been related to the fat and walnut content. In the control sample, the TBARS value increased ($P < 0.05$) over the first 72 days then decreased as from day 92. This pattern of TBARS behaviour during frozen storage (a peak followed by a decline of the TBARS value) has been reported in ground beef (Bhattacharya et al., 1988b; Brewer & Wu, 1993). The decline in the TBARS value has been attributed to interaction between some meat proteins and TBA-reactive substances (Bhattacharya et al., 1988b). The samples with walnut presented no appreciable changes in TBARS values during storage (Table 6). The lower concentration of meat pigment in the samples with walnut presumably favoured greater lipid stability, while other factors such as higher fat content (Table 2) and a higher ratio of unsaturated to saturated fatty acids (Serrano et al., 2005) would work in favour of the opposite effect. The oxidative stability of restructured beef steak with added walnut may be due to the increase in concentrations of compounds present in walnut, some of which inhibit lipid oxidation. The addition of walnut increased the α -tocopherol, γ -tocopherol (with 20% added walnut by 400 times the value for the control sample) and δ -tocopherol contents in restructured product (Serrano et al., 2005). Vitamin E, whether by way of dietary supplementation or by direct addition to the product, could be effective as an antioxidant in frozen meat products (Channon & Trout, 2002; Lanari, Cassens, Schaefer, & Scheller, 1994). Also, it has been suggested that the use of mixed tocopherol isomers (present in some vegetables) may be more effective in preventing lipid oxidation in muscle foods, since some of the tocopherol isomers have superior antioxidant activity to α -tocopherol (Channon & Trout, 2002).

Some authors have posited an inverse relationship between lipid oxidation and colour stability in restructured meats during frozen storage (Akamittath et al., 1990); however, the changes observed in this experiment in both phenomena (Tables 5 and 6) would seem to indicate that colour degradation and lipid oxidation were not related. In control sample, colour degradation occurred earlier in storage than did lipid oxidation,

Table 7
Sensory evaluation of cooked restructured beef steak^A

Samples	Off-flavour		Texture		Overall acceptability	
	Days of storage		Days of storage		Days of storage	
	1	92	1	92	1	92
Control	1.11 ₁ ^a	1.90 ₁ ^a	2.67 ₁ ^a	2.55 ₁ ^a	4.41 ₁ ^a	3.18 ₁ ^a
W/10	2.89 ₂ ^a	3.33 ₂ ^a	6.53 ₂ ^a	6.75 ₂ ^a	6.02 ₁ ^a	6.67 ₂ ^a
W/20	4.33 ₃ ^a	4.20 ₂ ^a	7.09 ₂ ^a	7.71 ₂ ^a	6.89 ₁ ^a	7.27 ₂ ^a
SEM	0.25		0.63		0.72	

^A For sample denomination see Table 1. Different numbers in the same column and different letters in the same line indicate significant differences ($P < 0.05$). SEM = Standard error of the mean. Texture and overall acceptability scale (0: dislike extremely and 10: like extremely). Off-flavour scale (1: none and 5: intense).

whereas in sample with walnut colour degradation was not accompanied by lipid oxidation.

3.6. Sensory evaluation

Sensory evaluation indicated that walnut presented some effects on sensory quality of restructured steak (Table 7). For flavour score, no differences ($P > 0.05$) dependent on added walnut and frozen storage were observed, but it did tend to be enhanced in the presence of walnut (4.70, 6.18 and 7.03 for control, W/10 and W/20, respectively). The panel were able to detect the addition of walnut as a special flavour (walnut-like). Samples with added walnut scored better for texture ($P < 0.05$) than the control. Similar results have been reported by Jiménez Colmenero et al. (2003). Frozen storage (92 days) had no effect ($P > 0.05$) on the sensory quality of restructured beef steak. No rancid flavours were detected in meat products. Data on sensory panel ratings showed that restructured steaks with added walnut were quite acceptable to the panellists even after 92 days in frozen storage.

The results show that restructured beef steak can be kept in frozen storage without any major adverse effects on quality characteristics apart from discolouring. There appears to be little denaturation or protein aggregation in restructured meat, to judge by the absence of changes in physicochemical properties (thawing loss, cooking loss and dimensional changes). Lipid oxidation of restructured beef steak with a medium (9–14%) fat content and a high unsaturated/saturated fatty acid ratio induced by the addition of walnut is not a limiting factor for frozen stability.

Acknowledgements

This research was supported by the Spanish Ministry of Science and Technology under project AGL2001-2398-C03-01 of the Plan Nacional de Investigación

Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I + D + I). Thanks are due to “Bernardo Josa Quilez” Valencia, Spain, for supplying the walnuts.

References

- Akamittath, J. G., Brekke, C. J., & Schanus, E. G. (1990). Lipid oxidation and color stability in restructured meat systems during frozen storage. *Journal of Food Science*, 55(6), 1513–1517.
- AOAC, (2000). Official methods of analysis of AOAC International, 17th edition. Association of Official Analytical Chemistry, Maryland, USA.
- Awad, A., Powrie, W. D., & Fennema, O. (1968). Chemical deterioration of frozen bovine muscle at -4°C . *Journal of Food Science*, 33, 227–235.
- Bhattacharya, M., Hanna, M. A., & Mandigo, R. W. (1988a). Effect of frozen storage conditions on yields, shear strength and color of ground beef patties. *Journal of Food Science*, 53(3), 696–700.
- Bhattacharya, M., Hanna, M. A., & Mandigo, R. W. (1988b). Lipid oxidation in ground beef patties as affected by time-temperature and product packaging parameters. *Journal of Food Science*, 53(3), 714–717.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extractions and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911–917.
- Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiu, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J., & Trakatellis, A. G. (1994). Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measurement lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1931–1937.
- Brewer, M. S., & Harbers, C. A. Z. (1991). Effect of packaging on physical and sensory characteristics of ground pork in long-term frozen storage. *Journal of Food Science*, 56(3), 627–631.
- Brewer, M. S., & Wu, S. Y. (1993). Display, packaging, and meat block location effects on color and lipid oxidation of frozen lean ground beef. *Journal of Food Science*, 58(6), 1219–1223.
- Bullock, K. B., Huffman, D. L., Egbert, W. R., Mikel, W. B., Bradford, D. D., & Jones, W. R. (1994). Storage stability of low-fat ground beef made with lower value cuts of beef. *Journal of Food Science*, 59(1), 6–9.
- Channon, H. A., & Trout, G. R. (2002). Effect of tocopherol concentration on rancidity development during frozen storage of a cured and an uncured processed pork product. *Meat Science*, 62(1), 9–17.
- Chen, C. M., & Trout, G. R. (1991). Color and its stability in restructured beef steaks during frozen storage: Effects of various binders. *Journal of Food Science*, 56(6), 1461–1464, 1475.
- Cofrades, S., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Carballo, J., & Jiménez Colmenero, F. (2004). Restructured beef with different proportions of walnut as affected by meat particle size. *European Food Research and Technology*, 218, 230–236.
- Demos, B. P., & Mandigo, R. W. (1996). Color of fresh, frozen and cooked ground beef patties manufactured with mechanically recovered neck bone lean. *Meat Science*, 42(4), 415–429.
- Esguerra, C. M. (1994). Quality of cold-set restructured beef steak: effects of various binders, marination and frozen storage. Meat Industry Research Institute of New Zealand. Publication MIRINZ 945.
- FDA. (2004). US Food and Drug Administration. Office of nutritional products, labeling and dietary supplements. Qualified Health Claims: Letter of Enforcement Discretion – Walnuts and Coronary Heart Disease, (Docket No 02P-0292), March, 9. Available from: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/qhcnuts3.html>. Accessed 28/10/2004.
- Feldman, L. B. (2002). The scientific evidence for a beneficial health relationship between walnuts and coronary disease. *Journal of Nutrition*, 132(5), 1062S–1101S.
- Field, R. A., Williams, J. C., Prasad, V. S., Cross, H. R., Secrist, J. L., & Brewer, M. S. (1984). An objective measurement for evaluation of bind in restructured lamb roasts. *Journal of Texture Studies*, 15(2), 173–178.
- Houben, J. H., van Dijk, A., Eikelenboom, G., & Hoving-Bolink, A. V. (2000). Effect of dietary vitamin E supplementation, fat level and packaging on colour stability and lipid oxidation in minced meat. *Meat Science*, 55(3), 331–336.
- Iwamoto, M., Sato, M., Kono, M., Hirooka, Y., Sakai, K., Takeshita, A., et al. (2000). Walnuts lower serum cholesterol in Japanese men and women. *Journal of Nutrition*, 130(2), 171–176.
- Jacobs, D. J., & Sebranek, J. G. (1980). Use the prerigor beef for frozen ground beef patties. *Journal of Food Science*, 45, 648.
- Jiménez Colmenero, F., Carballo, J., & Solas, M. T. (1995). The effect of use of freeze-thawed pork on properties of bologna sausage with two fat levels. *International Journal of Food Science and Technology*, 30, 335–346.
- Jiménez Colmenero, F., Carballo, J., & Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59(1), 5–13.
- Jiménez Colmenero, F., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Cofrades, S., & Carballo, J. (2003). Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science*, 65(4), 1391–1397.
- Kim, J. S., Godber, J. S., & Prinyawiwatkul, W. (2000). Restructured beef roasts containing rice bran oil and fiber influences cholesterol oxidation and nutritional profile. *Journal of Muscle Foods*, 11(2), 111–127.
- Lanari, M. C., Cassens, R. G., Schaefer, D. M., & Scheller, K. K. (1994). Effect of dietary vitamin E on pigment and lipid stability of frozen beef: a kinetic analysis. *Meat Science*, 38(1), 3–15.
- Lee, B. J., Hendricks, D. G., & Cornforth, D. P. (1998). Effect of sodium phytate, sodium pyrophosphate and sodium tripolyphosphate on physico-chemical characteristics of restructured beef. *Meat Science*, 50(3), 273–283.
- McMillin, K. W., Bidner, T. D., Felchle, S. E., Dugas, S. M., & Koh, K. C. (1991). Flavor and oxidative stability of ground beef patties as affected by source and storage. *Journal of Food Science*, 56(4), 899–902.
- Miller, A. J., Ackerman, S. A., & Palumbo, S. A. (1980). Effects of frozen storage on functionality of for processing. *Journal of Food Science*, 45, 1466–1471.
- Pikul, J., Leszczynski, D. E., & Kummerow, F. A. (1989). Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 1309–1313.
- Raharjo, S., Dexter, D. R., Worfel, R. C., Sofos, J. N., Solomon, M. B., Shults, G. W., et al. (1995). Quality characteristics of restructured beef steaks manufactured by various techniques. *Journal of Food Science*, 60(1), 68–71.
- Rocha-Garza, A. E., & Zayas, J. F. (1996). Quality of broiled beef patties supplemented with wheat germ protein flour. *Journal of Food Science*, 61(2), 418–421.
- Sabaté, J. (1993). Does nut consumption protect against ischaemic heart disease? *European Journal of Clinical Nutrition*, 47(1), S71–S75.
- Serrano, A., Cofrades, S., Ruiz-Capillas, C., Olmedilla-Alonso, B., Herrero-Barbudo, C., & Jiménez-Colmenero, F. (2005). Nutritional profile of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science*, 70, 647–654.
- Wang, B., Pace, R. D., Dessai, A. P., Bovel-Benjamin, A., & Phillis (2002). Modified extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values in meat with increased specificity and simplicity. *Journal of Food Science*, 67(8), 2883–2886.

Wang, B., Xiong, Y. L., & Moody, W. G. (1999). Physicochemical and sensory properties of restructured beef steaks containing beef heart surimi. *International Journal of Food Science and Technology*, *34*, 351–358.

Witte, V. C., Krause, G. F., & Bailey, M. E. (1970). A new extraction methods for determining 2-thiobarbituric acid values of pork and beef during storage. *Journal of Food Science*, *35*, 582–585.

IV.- DISCUSIÓN INTEGRADORA.

IV.- DISCUSIÓN INTEGRADORA.

Las tres secciones que componen este trabajo se han planteado con el fin de abordar los tres objetivos específicos propuestos, para acometer el objetivo principal del mismo: el diseño y desarrollo de filetes reestructurados de vacuno con la incorporación de nuez, modificados cuali y cuantitativamente en componentes bioactivos asociados con el riesgo cardiovascular.

En beneficio de una mejor comprensión de la investigación realizada, la discusión integradora se ha dispuesto manteniendo, dentro de lo posible, el planteamiento establecido a nivel de objetivos y diseño experimental. En tal sentido, la discusión se ha configurado en tres grandes apartados que recogen los aspectos relativos a cada uno de los objetivos específicos. Así, el primer apartado analiza los estudios encaminados al desarrollo de filetes reestructurados con nuez, teniendo en cuenta la influencia de diferentes factores en las características de los productos. Es evidente que los derivados aquí formulados han de exhibir propiedades similares a las de cualquier producto de naturaleza análoga.

Puesto que la actividad de los alimentos funcionales se fundamenta en la existencia de ingredientes funcionales, un aspecto esencial del estudio propuesto (y que es analizado en el segundo apartado), consiste en valorar como la incorporación de nuez condiciona la presencia de diferentes componentes bioactivos.

Por último, una vez establecida la adecuada aptitud tecnológica del producto y analizados diversos aspectos nutricionales, resulta necesario evaluar la estabilidad del mismo en las condiciones habituales de conservación (refrigeración y congelación). Este es el propósito al que responde el tercer apartado.

Si bien la información manejada en la discusión integradora procede de las publicaciones (capítulos) que configuran esta memoria, se ha considerado de interés la inclusión de varios anexos por cuanto recogen un esfuerzo investigador de naturaleza complementaria, que puede contribuir a un mejor entendimiento de algunos de los aspectos examinados.

IV.1.- Desarrollo de filetes reestructurados con nuez: influencia de factores de composición y tecnológicos.

El estudio de los diferentes factores de composición y tecnológicos analizados en este primer apartado de la discusión integradora, se ha realizado agrupándolos en tres partes: porcentaje de nuez, grado de desintegración estructural de la materia prima cárnica y sistemas de gelificación.

Influencia de la presencia de nuez.

La incorporación de nuez en los reestructurados y los consiguientes cambios de composición originados, dieron lugar a modificaciones en la matriz del homogenizado cárnico y a la formación de estructuras proteicas inducidas en los procesos de gelificación por calor que experimentan los sistemas (**Capítulos I.1; I.2; I.3; III.2 y Anexo II**). Este hecho se pone en evidencia tanto a través del análisis de aspectos morfológicos de la microestructura de los productos, como de las propiedades de los mismos. Las proteínas del músculo en base a interacciones proteína-proteína, proteína-agua y proteína-grasa, condicionan muchas propiedades básicas de los productos cárnicos, como son la capacidad de retención de agua, formación de geles, procesos de emulsificación, etc. (Whiting, 1988). Por diversos mecanismos, y como consecuencia de la presencia de diferentes componentes de la nuez, se producen modificaciones en el tipo de interacciones que conducen a la existencia de ciertas limitaciones (interferencias) en el proceso de gelificación por calor, afectando a distintas características de los productos como: propiedades ligantes de grasa y agua, textura, cambios dimensionales y análisis sensorial.

Las **propiedades ligantes** de agua y grasa son parámetros importantes a determinar. En este sentido, el comportamiento durante el proceso de cocción es de gran relevancia en la elaboración de este tipo de productos, ya que incide de manera directa sobre los costes (pérdidas de peso durante la cocción) y también sobre las características finales del producto (textura, jugosidad, color, etc.). Cambios de composición como consecuencia del tratamiento térmico, pueden llevar aparejado una disminución en la aceptabilidad de los mismos (Rocha-Garza & Zayas, 1996). En los reestructurados formulados, en general, se apreció una relación directa entre el porcentaje de nuez y la mejora de las propiedades ligantes de grasa y agua. Tal efecto evaluado a través de

distintos parámetros, se ha puesto en evidencia en diferentes experimentos (**Capítulos I.1: Tablas 3 y 4, I.2; Figura 1; I.3: Tabla 5; III.2: Tabla 4 y Anexo I: Figura 1B**). En la figura IV.1, realizada con resultados procedentes de los **capítulos I.1, I.3, III.2 y Anexo I**, se ha podido establecer una relación lineal inversa entre el porcentaje de variación de las pérdidas de peso por cocción (siendo 100 el de las muestras con 0 % de nuez, en cada caso) y las diferentes proporciones de nuez incorporada. Este comportamiento parece estar relacionado con diversos factores, algunos de ellos asociados a aspectos cuantitativos relativos a la diferente composición de las formulaciones, disminución de la humedad, unida a un incremento en el contenido de grasa de los productos, con el aumento del porcentaje de nuez. Sin embargo, otros factores pueden influir también en este tipo de propiedades, entre ellos se pueden señalar: fuerza iónica del medio, aptitud tecnológica de las proteínas cárnicas utilizadas como materia prima, pH del producto, proceso de picado (tamaño de partícula), condiciones del tratamiento térmico, empleo de diversos tipos de ingredientes, que pueden modificar la conductividad térmica del sistema, entre otros (Fernández-Martín, 1997).

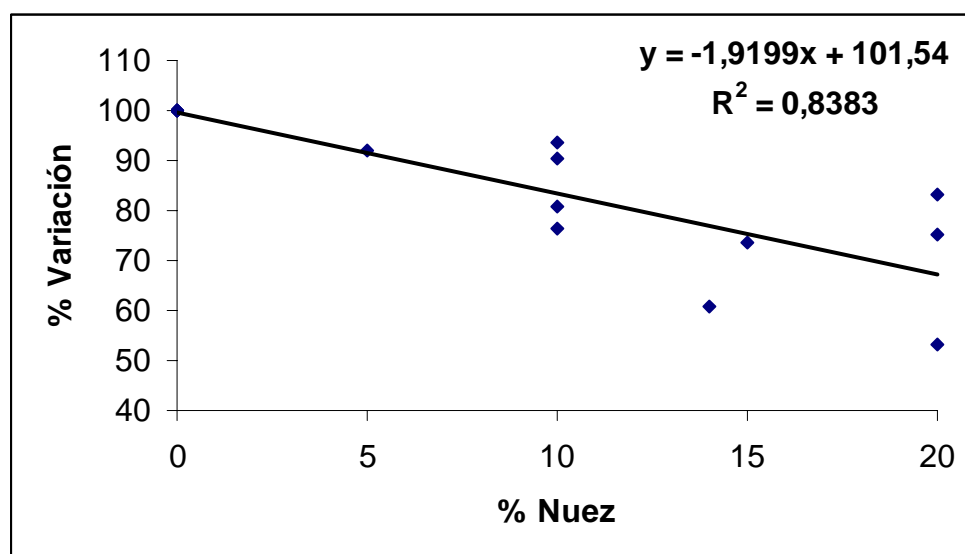


Figura IV.1. Análisis global del porcentaje de variación en las pérdidas por cocción de los reestructurados en función del porcentaje de nuez incorporado (**Capítulos I.1; I.3; III.2 y Anexo I**).

% Variación, calculado fijando la muestra 0 % nuez como 100 % en cada caso.

La **textura** de los productos cárnicos es un elemento esencial por cuanto constituye uno de los principales criterios que condiciona su aceptación o rechazo por el consumidor. Entre los parámetros de textura, la dureza tiene un papel destacado.

Asimismo, la unión de las partículas que conforman los reestructurados resulta un parámetro esencial a valorar en este tipo de productos (Field *et al.*, 1984). De los resultados obtenidos se desprende que, en general, la presencia de nuez da lugar a la formación de estructuras más blandas. Así, la incorporación de nuez en más de un 10 % provocó un ablandamiento progresivo de los productos, disminuyendo ($P < 0,05$) la fuerza máxima de corte (KSF) y la fuerza de ligazón (BS), tanto en productos sometidos a tratamiento térmico (**Capítulos I.1: Tabla 5; I.2: Tabla 3 y III.2: Tabla 4**), como en los no tratados térmicamente (crudos) (**Capítulo I.3: Tabla 6**). Tal hecho ha permitido establecer, aportando datos de diferentes experimentos (**Capítulos I.1; I.2; I.3 y III.2**), una la relación lineal inversa entre el porcentaje de nuez y la BS de las muestras sometidas a tratamiento térmico (Figura IV.2). Este tipo de comportamiento se ha relacionado con diversos factores, uno de ellos la presencia de grasa. Sin embargo, resultados diferentes han sido descritos en relación con la influencia del contenido en grasa (Berry, 1987; Penfield *et al.*, 1988). Por sus características físico-químicas y efecto de dilución sobre el material proteico, el incremento de grasa puede provocar una disminución en la cohesión entre las partículas de carne disminuyendo la resistencia al corte.

Por otro lado, a medida que aumenta la proporción de grasa, manteniéndose constante el nivel de sal, se produce un aumento de sal en la porción de carne magra/agua, debido a que la sal sólo se disuelve en agua y no en grasa. Esto provoca un aumento en la fuerza iónica y en consecuencia de la solubilidad de las proteínas, lo que debería inducir la formación de geles más fuertes. En sistemas cárnicos, la grasa también puede actuar como un lubricante que permite a los miofilamentos deslizarse unos sobre otros más fácilmente, lo que hace que disminuya la dureza y la resistencia al corte (Forrest *et al.*, 1975; Cross *et al.*, 1980). Esta explicación, atribuible a productos en los que las estructuras musculares están poco alteradas (caso de los reestructurados objeto de esta memoria), resulta menos asumible a medida que la desintegración muscular es mayor.

Otro posible mecanismo a considerar se basa en que la incorporación de ingredientes no cárnicos puede reducir la proporción de agua disponible para constituir la matriz proteica formada en los procesos de gelificación, lo cual también puede significar menor unión entre partículas (Farouk *et al.*, 2000). Asimismo, algunos autores han indicado que la incorporación de este tipo de ingredientes da lugar a estructuras que tiene menor rigidez y se rompen más fácilmente, efecto atribuido principalmente a la

dilución que provocan en el sistema proteico (Rocha-Garza & Zayas, 1996; Tsai *et al.*, 1998), o a la reducción en la fricción y/o unión entre las partículas de carne (Saleh & Ahmed, 1998). No hay que olvidar que en la textura de los productos también pueden influir cambios de composición acontecidos durante el procesado; así por ejemplo a igual composición, menores pérdidas de peso por cocción dan lugar a productos más blandos (Shao *et al.*, 1999).

Finalmente, hay que considerar la posibilidad de que algunos componentes musculares (muy accesibles por la existencia de un elevado grado de desintegración estructural), interaccionen con los componentes de la nuez, limitando los procesos de gelificación térmica y por tanto las características de los productos obtenidos. En efecto la incorporación de nuez modifica la **microestructura** de los productos, en los que las partículas cárnicas aparecen recubiertas por los componentes de la nuez, lo que contribuye a una mayor separación entre ellas (Capítulos I.1: Fig. 1b y I.2: Fig. 3b). Por otro lado, la existencia de una estructura de entramado proteico menos continua y más dispersa, limita la ligazón entre los fragmentos cárnicos, lo que contribuye a dar lugar a la formación de texturas más blandas (Capítulos I.1: Tabla 5; I.2: Tabla 3; I.3: Tabla 6 y III.2: Tabla 4).

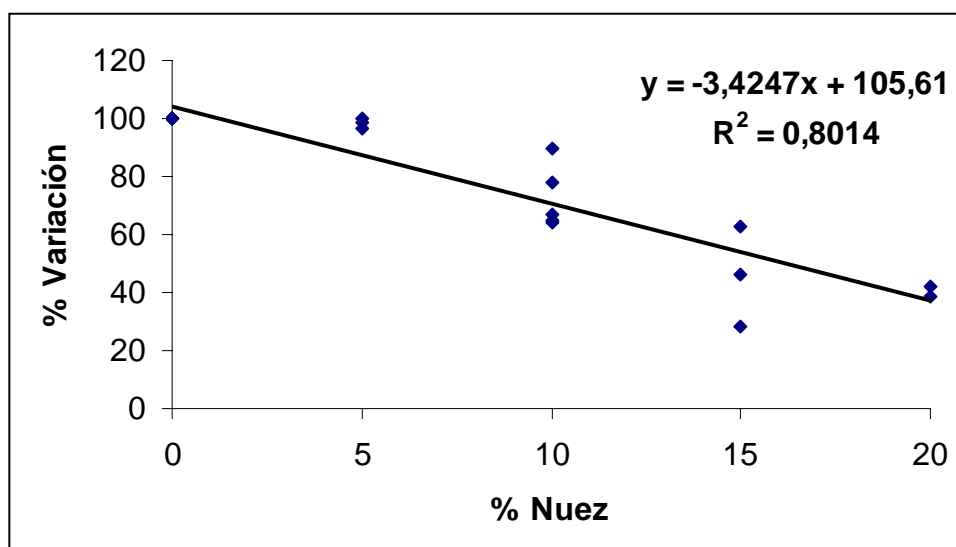


Figura IV.2. Porcentaje de variación de la fuerza de ligazón (BS, N) de las muestras sometidas a tratamiento térmico, en función del porcentaje de nuez incorporado (Capítulos I.1; I.2; I.3 y III.2).

% Variación, calculado fijando la muestra 0 % nuez como 100 % en cada caso.

La apariencia es quizás el primer factor que toma en consideración el consumidor a la hora de elegir un producto, siendo el **color** uno de sus elementos básicos. Por tanto, el color y los cambios que éste pueda experimentar (decoloración,

etc.) constituyen uno de los principales problemas asociados a la comercialización de los productos reestructurados (Chen & Trout, 1991). En este contexto, resulta necesario valorar el efecto que tiene sobre el color la incorporación de nuez. La presencia de nuez afecta a los diferentes parámetros de color,¹ provocando una dilución de los pigmentos de la carne, y por tanto un aumento ($P < 0,05$) de la luminosidad y una disminución ($P < 0,05$) del parámetro “a*” en el producto crudo (Capítulos I.1: **Tabla 6**; I.3: **Tabla 4**; III.2: **Tabla 5** y Anexo I: **Tabla 2**). Sin embargo, un efecto contrario se observó en el producto sometido a tratamiento térmico (Capítulos I.1: **Tabla 6** y I.2: **Tabla 4**). Para visualizar tales cambios, en la figura IV.3, se ha representado gráficamente la variación que experimentan los distintos parámetros de color en función del porcentaje de nuez adicionado en las muestras crudas (Figura IV.3A) y tratadas térmicamente (Figura IV.3B).

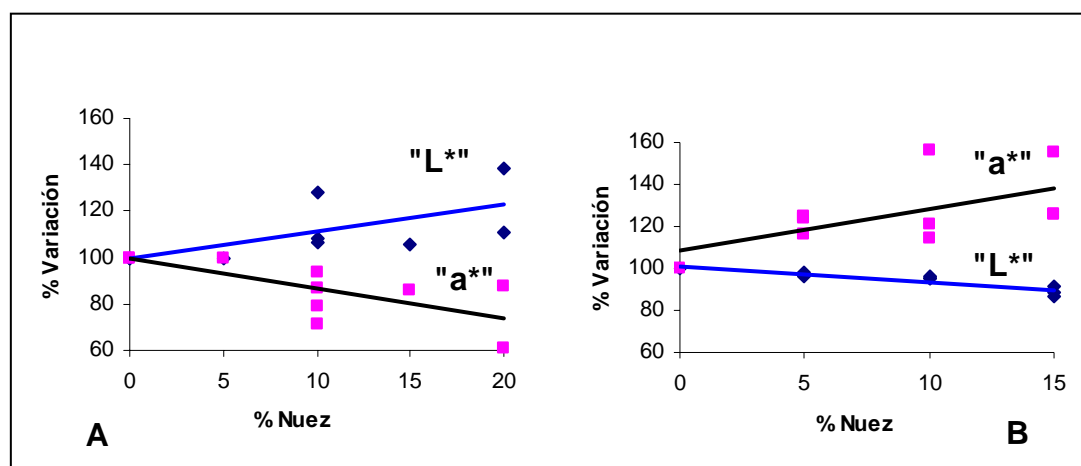


Figura IV.3. Porcentaje de variación de los parámetros de color (“L*” y “a*”) de los reestructurados en crudo (A) (Capítulos I.1; I.3; III.2 y Anexo I) y tratados térmicamente (B) (Capítulos I.1 y I.2), en función del porcentaje de nuez incorporado. % Variación, calculado fijando la muestra 0 % nuez como 100 % en cada caso.

El **cambio dimensional** que sufren los reestructurados tras el tratamiento térmico es un fenómeno muy común en este tipo de productos y que de producirse de manera inadecuada, provoca un deterioro de su imagen restándole valor comercial. Los reestructurados cárnicos elaborados presentaron ciertas variaciones en su geometría tras el tratamiento térmico (Capítulo I.1: **Tabla 3** y III.2: **Tabla 4**), observándose una contracción ($P < 0,05$) de la superficie del filete (Capítulo III.2: **Tabla 4**) y un aumento ($P < 0,05$) de su grosor (Capítulo I.1: **Tabla 3**). Tales cambios están relacionados con

¹ Los parámetros de color analizados fueron “L*”, “a*” y “b*”, que dentro de una escala de color CIELab corresponden a luminosidad o tendencia al blanco, tendencia al rojo/verde y tendencia al amarillo/azul, respectivamente.

el porcentaje de nuez y fueron menores ($P < 0,05$) cuanto mayor fue la cantidad de nuez incorporada (**Capítulo III.2: Tabla 4**).

Un aspecto esencial del estudio fue valorar las consecuencias que conlleva la presencia de nuez sobre las **propiedades sensoriales** de los productos formulados. Para incidir en este punto, se realizó un análisis sensorial mediante un panel de catadores semientrenados a nivel de terminología y de los parámetros que se pretendía evaluar (flavor, textura y aceptabilidad general). Las consecuencias de la incorporación de nuez en la valoración sensorial de los diferentes reestructurados ha sido planteada en varios de los estudios incluidos en esta memoria (**Capítulos I.1: Tabla 7; I.2: Tabla 3; I.3: Tabla 5; III.2: Tabla 7 y Anexo I: Tabla 1**). Un primer aspecto de interés reside en que el jurado de degustación fue capaz de apreciar la incorporación de nuez, al detectar la presencia de ciertas notas flavor (similar a nuez), las cuales fueron mayores ($P < 0,05$) cuanto más elevado era el porcentaje de nuez en las muestras. Esta característica fue valorada positivamente a nivel de flavor, textura y aceptabilidad general al obtener puntuaciones mayores ($P < 0,05$) que las muestras sin nuez (**Capítulos I.2: Tabla 3; I.3: Tabla 5; III.2: Tabla 7 y Anexo I: Tabla 1**). Sin embargo, estas variaciones no fueron estadísticamente significativas en el **capítulo I.1 (Tabla 7)**, a pesar de mostrar cierta tendencia a aumentar con el incremento del contenido en nuez. La detección de sabores a nuez en este tipo de productos, es un elemento deseable por cuanto es intencionado que los consumidores conozcan y valoren su existencia. La variedad de nuez empleada en la formulación podría contribuir a modular la magnitud de esta característica.

Un análisis comparativo entre parámetros de textura indica que no parece existir correlación entre los evaluados mediante procedimientos objetivos (texturómetro) y los determinados subjetivamente (sensorial).

Influencia del tamaño de partícula.

El proceso de elaboración de los reestructurados cárnicos requiere de ciertas etapas en las que se realiza una mayor o menor desintegración estructural de las materias primas, lo que va a repercutir en los atributos finales de los mismos. El **grado de picado de la materia prima cárnica** es uno de los principales factores tecnológicos que condicionan las características de los reestructurados cárnicos. El estudio del efecto que producen diferentes grados de picado se describe en el **capítulo I.2**, observándose

diversos efectos sobre las propiedades ligantes, textura, microestructura y calidad sensorial de los reestructurados precocinados elaborados.

Los resultados obtenidos indican que el tipo de picado condicionó la naturaleza del producto que, en general, presentó mejores **propiedades ligantes** (de grasa y agua) (**Capítulo I.2: Fig. 1**) y **texturas** (KSF) más blandas (**Capítulo I.2: Tabla 3**), cuanto mayor era el grado de desintegración estructural de la carne. Tal comportamiento parece asociado a varios tipos de factores. Por un lado, teniendo en cuenta aspectos meramente físicos, es evidente que existe una relación inversa entre el grado de fragmentación muscular y la resistencia del medio a procesos de penetración, corte, etc., siendo las estructuras formadas más blandas y deformables (Reagan *et al.* 1983; Berry, 1987; Berry *et al.*, 1987; Mandingo, 1988). Por otro lado, distintos niveles de picado también provocan diferencias en la relación superficie/volumen de las partículas cárnicas que producen modificaciones en la extractabilidad de proteínas, al favorecer la exposición y el contacto de los constituyentes de la carne con los ingredientes no cárnicos incorporados (Mandingo, 1988). La mayor proporción de proteína implicada hace que los procesos de gelificación térmica den lugar a una matriz proteica más densa y continua, que favorece la unión entre las partículas de carne (Booren & Mandingo, 1987; Mandingo, 1988), dando lugar a texturas menos blandas. La **microestructura** de los productos estudiados permiten apreciar este tipo de comportamiento (**Capítulo I.2: Fig. 2a-b** y **Fig. 3a-b**). Así, las muestras de picado fino presentaron una estructura que cubría la superficie de las partículas cárnicas de manera homogénea y regular, observándose además una mayor estabilidad de la red de proteínas (**Fig. 2a** y **Fig. 3a**). Sin embargo, las muestras control de picado más grueso presentaron una red proteica menos continua, más dispersa y con poca presencia alrededor o conectando las partículas de carne (**Fig. 2b**). Esto se observa en los valores más bajos ($P < 0,05$) de BS y de elongación hasta la ruptura de las muestras de picado más grueso (**Capítulo I.2: Tabla 3**).

Parece evidente que tales circunstancias puedan condicionar el efecto que induce la incorporación de los ingredientes no cárnicos durante la formulación del producto (Berry *et al.*, 1987; Hunt & Kropf, 1987; Mandingo, 1988; Nielsen *et al.*, 1996; Boles & Shand, 1998; Berry *et al.*, 1999). De hecho, la mayor exposición de estructuras musculares favorece su interacción con los componentes de la nuez que, se ha apreciado puede interferir la formación de la estructura de red formada en los procesos de gelificación por calor (discutido con anterioridad). Nielsen *et al.* (1996) observaron en

reestructurados de vacuno la existencia de interferencias de ciertos componentes exógenos en el mecanismo de gelificación térmica de las proteínas cárnicas, las cuales aumentaron al disminuir el tamaño de la partícula.

La **calidad sensorial** de los filetes reestructurados también se vio afectada por el tamaño de picado de la carne (**Capítulo I.2: Tabla 5**), sin embargo, tal efecto parece estar condicionado por la presencia de nuez. Los productos que obtuvieron una mayor valoración a nivel de flavor, textura y aceptabilidad general fueron los que contenían un 10 % de nuez y picado fino, y los de un 5 % de nuez y picado más grueso. Aunque parece evidente que cambios en la naturaleza físico-química de los productos tengan consecuencias en los atributos sensoriales, se han descrito resultados contradictorios acerca del efecto del tamaño de la partícula de carne sobre ellos. Algunos ensayos han concluido que diferentes tipos de desintegración de la carne no afectan a los parámetros sensoriales (jugosidad, unión, flavor, textura, elasticidad, aceptabilidad general, etc.) de los derivados cárnicos (Berry *et al.*, 1987; Raharjo *et al.*, 1995; Boles & Shand, 1998). Sin embargo, en estudios realizados sobre reestructurados de vacuno se ha señalado que la fragmentación muscular (0,30; 0,61 y 0,99 cm) ejerció sólo pequeños efectos sobre los atributos sensoriales (Marriott *et al.*, 1986). Más claros fueron los resultados descritos por Chesney *et al.* (1978) que mostraron que la terneza y la aceptabilidad general disminuyeron al aumentar el tamaño de partícula (0,64 y 0,95 cm). En el mismo sentido Berry *et al.* (1987) observaron que el picado 0,32 cm dio lugar a productos de mayor terneza, comparado con los preparados con un tamaño de 0,40 cm.

Sistemas de gelificación.

Tradicionalmente, los procesos de gelificación en productos reestructurados se han basado en la acción de la sal y fosfatos, que con la ayuda de medios mecánicos favorecen la extractabilidad de las proteínas miofibrilares, las cuales durante los procesos de calentamiento (gelificación por calor) sufren una serie de transformaciones que dan lugar a la formación de estructuras proteicas estables, responsables de las características de los productos (Booren & Mandigo, 1987; Rahajo *et al.*, 1995; Boles & Shand, 1998; Farouk *et al.*, 2000). Con este procedimiento los productos sólo pueden ser comercializados precocinados o congelados, debido a que la ligazón entre partículas es relativamente pobre y no resiste las condiciones de manipulación exigidas a los productos frescos (Boles & Shand, 1998; 1999). Los procedimientos de ligazón en frío

mediante agentes químicos (MTG, alginatos, etc.) posibilitan la comercialización de reestructurados en condiciones de refrigeración, más acorde con las demandas actuales del consumidor, además de permitir la reducción de sal y por tanto sodio, con los consiguientes beneficios para la salud (Wijngaards & Paardekooper, 1987; Nielsen *et al.*, 1995; Kuraishi *et al.*, 1997). El creciente interés en estos nuevos procedimientos ha motivado que, además de los procesos de gelificación por calor, encaminados a la comercialización de productos congelados (**Capítulos I.1 y III.2**) y precocinados (**Capítulo I.2**), se hayan ensayado procedimientos de gelificación en frío empleando MTG/C, con y sin sal (**Capítulo I.3 y Anexo I**). Las condiciones de gelificación ensayadas condicionaron de manera relevante las características físico-químicas de los productos, en especial a nivel de textura, propiedades ligantes y color.

Un elemento esencial de la aplicación de la tecnología de gelificación en frío es dotar a los productos de adecuadas condiciones que posibiliten su manejo previo a la cocción sin experimentar desestructuración. Como cabía esperar, los derivados cárnicos elaborados para ser procesados mediante gelificación por calor (**Capítulos I.1 y III.2**), presentaron características **texturales** (KSF y BS) que no fueron adecuadas para su manipulación en estado crudo (**Capítulos I.1: Tabla 5 y III.2: Tabla 4**). Sin embargo, el tratamiento térmico aplicado al producto, dio lugar a un incremento ($P < 0,05$) tanto en KSF como en BS (**Capítulos I.1: Tabla 5; I.2: Tabla 3 y III.2: Tabla 4**). En todo caso, tales productos exhibieron características análogas a otros de similar naturaleza. Comportamiento muy distinto es el que acontece en el reestructurado elaborado mediante gelificación en frío (**Capítulo I.3: Tabla 6 y Anexo I**). Sus características mecánicas resultaron adecuadas para soportar la manipulación a la que habitualmente se somete un filete comercializado en fresco, tanto en las muestras elaboradas con sal (S), como aquellas otras que no contenían sal en su formulación (NS) (Figura IV.4). La sal está implicada en procesos de solubilización proteica, y por tanto puede influir en la ligazón entre las partículas de carne. En este caso su implicación va a ser en dos sentidos: directamente a través del proceso de gelificación por calor e indirectamente a través de la acción de la MTG (Kuraishi *et al.*, 1997; Tseng *et al.*, 2000; Carballo *et al.*, 2005). Las proteínas solubles actúan como agente ligante y crean un buen sustrato para las reacciones de entrecruzado por la MTG, favoreciendo la unión de las partículas cárnicas (Kuraishi *et al.*, 1997).



Figura IV.4. Manejabilidad de un filete reestructurado crudo con 20 % de nuez, elaborado mediante un sistema de gelificación en frío (MTG/C) con y sin sal (**Capítulo I.3** y **Anexo I**).

En la figura IV.5 se recoge una valoración más general del efecto sobre la unión entre partículas cárnicas, en función del tipo de proceso de gelificación y de la concentración de nuez. En ella se observa cómo las muestras elaboradas mediante un proceso de gelificación en frío (con MTG/C) (**Capítulo I.3**), presentaron (en crudo) valores de BS muy superiores a las que no contenían MTG/C (**Capítulos I.1** y **III.2**). Tales niveles son los que reflejan suficiente grado de cohesión para evitar su desestructuración al ser manipulados.

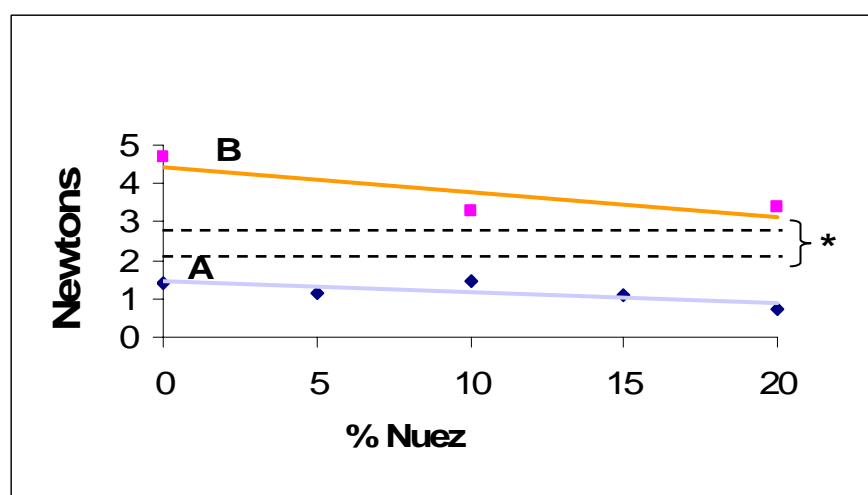


Figura IV.5. Fuerza de ligazón (BS, N) de distintos reestructurados analizados en crudo, elaborados para gelificación por calor (A) (**Capítulos I.1** y **III.2**) y preparados para gelificación en frío (B) (**Capítulo I.3**).

* Rango que delimita las zonas donde los filetes no presentan la suficiente consistencia para su manipulación en crudo (zona inferior) y donde sí la muestran (zona superior).

El formular reestructurados con aceptable fuerza de ligazón en frío, si bien es una condición necesaria, no es suficiente para su aceptabilidad tecnológica. Esto se pone en evidencia al considerar las **propiedades ligantes** de grasa y agua, que resultaron

pobres, tanto evaluadas en el producto fresco como tras el tratamiento térmico (**Capítulo I.3: Tabla 5 y Anexo I: Figura 1**). Tal hecho no resulta sorprendente ya que la MTG por sí misma no parece favorecer los mecanismos de interacción con agua o grasa. Es por ello que hay que habilitar estrategias complementarias para compensar esta carencia. De los resultados de este trabajo surgen dos posibilidades, la incorporación de nuez (20 %) o la adición de NaCl (2 %).

Para evidenciar más claramente este tipo de comportamiento, en la figura IV.6, con datos procedentes de diversos estudios (**Capítulos I.1; I.2; I.3; III.2 y Anexo I**), se ha representado gráficamente el efecto de ambas variables en relación con las pérdidas de peso. El efecto que ejerce la nuez ha sido observado en diversos estudios y discutido anteriormente. Si bien la influencia del NaCl (y también del STP) ha sido ampliamente descrita en relación con la solubilización de las proteínas y sus implicaciones en los procesos de gelificación por calor, su actividad en presencia de MTG ha dado lugar a resultados discrepantes. Mientras que algunos estudios han señalado que la MTG no influye sobre el efecto de la sal en las propiedades ligantes de agua (Kilic, 2003; Petrasik & Jarmoluk, 2003), otros observaron que las aumentaba (Kuraishi *et al.*, 1997; Tseng *et al.*, 2000; Pietrasik & Li-Chan, 2002), e incluso que provocaba su disminución (Kuraishi *et al.*, 1996; O'Kennedy, 2000; Carballo *et al.*, 2005). Estos comportamientos diferentes pueden atribuirse a que el efecto de la MTG sobre las propiedades de retención de agua y grasa, va a depender de factores tales como la concentración y el tipo de MTG empleada y las condiciones de utilización (temperatura, tiempo, tamaño de la partícula de carne, presencia de otros ingredientes, procedencia de la carne, etc.).

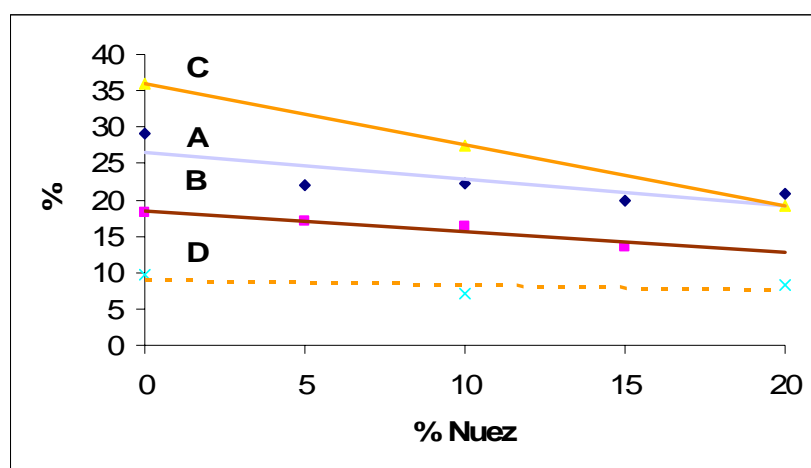


Figura IV.6. Pérdida de peso (%) tras la cocción de los filetes reestructurados: congelados (A) (**Capítulos I.1 y III.2**), precocinados (B) (**Capítulo I.2**), refrigerados sin sal (C) y con sal (D) (**Capítulos I.3 y Anexo I**).

El tipo de tecnología ensayada para cada tipo de proceso de gelificación se ha demostrado que afecta al **color** de los reestructurados elaborados (**Capítulo I.1: Tabla 6; I.3: Tabla 4; III. 2: Tabla 5 y Anexo I: Tabla 2**). Así, los productos crudos, tanto congelados como refrigerados con sal, presentaron valores similares de los parámetros de color “L*”, “a*” y “b*”, mientras que el reestructurado refrigerado sin sal (**Capítulo I.3: Tabla 4**), presentó un aumento de “L*” y una disminución de “a*” en relación a las muestras con sal. Por otro lado, el tratamiento térmico con independencia de otros factores, provocó un aumento en los valores de luminosidad y una disminución tanto de “a*” como de “b*” (**Capítulo I.1: Tabla 6 y I.2: Tabla 4**). En la figura IV.7 se representan el comportamiento de los parámetros de color (“L*”, “a*” y “b*”) de las muestras con 0 y 10 % de nuez preparadas en distintas condiciones. En ella se puede comprobar como en las muestras crudas (A, B y C) la incorporación de sal da lugar a un aumento de “a*”, junto a una disminución de “L*” (A y B), comparado con la muestra sin sal (C). Mientras que tras el tratamiento térmico de los productos (T y T2) se observa el efecto contrario (Figura IV.7). Efectos similares han sido observados por otros autores (Rocha-Garza & Zayas, 1996; Lee *et al.*, 1998).

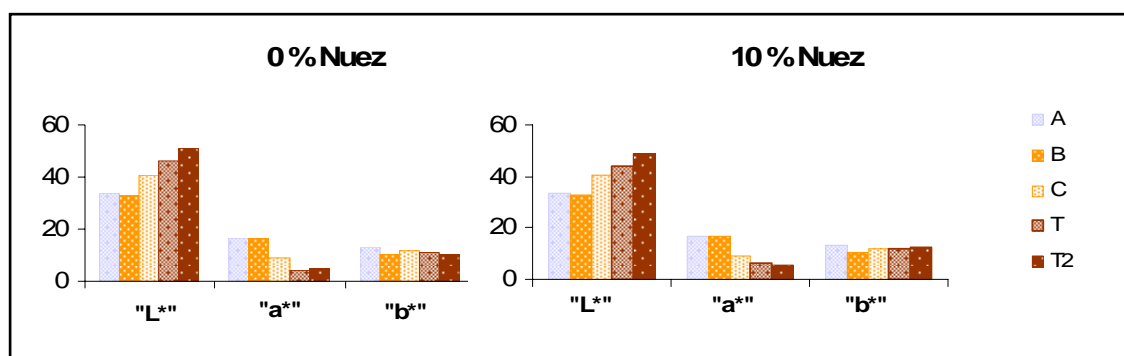


Figura IV.7. Variaciones en los parámetros de color (“L*”, luminosidad, “a*”, rojo/verde y “b*”, amarillo/azul) de reestructurados (0 y 10 % de nuez) en función del sistema de gelificación empleado: congelado (A) (**Capítulos I.1 y III.2**), refrigerado con sal (B) y sin sal (C) (**Capítulo I.3 y Anexo I**), y del tratamiento térmico aplicado: congelado/cocinado (T) (**Capítulo I.1**) y precocinado (T2) (**Capítulo I.2**).

Un aspecto a destacar derivado de los resultados obtenidos, se desprende del hecho de que la incorporación de nuez posibilita el desarrollo de productos que, reuniendo adecuadas propiedades físico-químicas (incluso a nivel de retención de agua y grasa), pueden ser formulados sin la presencia de sal. La reducción de los niveles de sodio, por sus implicaciones en la salud, es un aspecto directamente señalado como objetivo en la *Estrategia NAOS*. En los productos cárnicos su trascendencia es aún mayor, por su contribución relativamente elevada a la ingesta de sodio en la dieta.

IV.2.- Perfil nutricional.

El potencial efecto funcional que puede proporcionar la presencia de nuez en los reestructurados cárnicos, se fundamenta en los cambios originados sobre diversos componentes con implicaciones en la mejora del estado de salud y bienestar y/o reducción del riesgo de enfermedad. En este sentido el estudio realizado en el **capítulo II.1**, ha pretendido analizar cómo la presencia de un 20 % de nuez condiciona el perfil nutricional (aminoácidos, ácidos grasos, colesterol, minerales y vitamina E) de los filetes reestructurados.

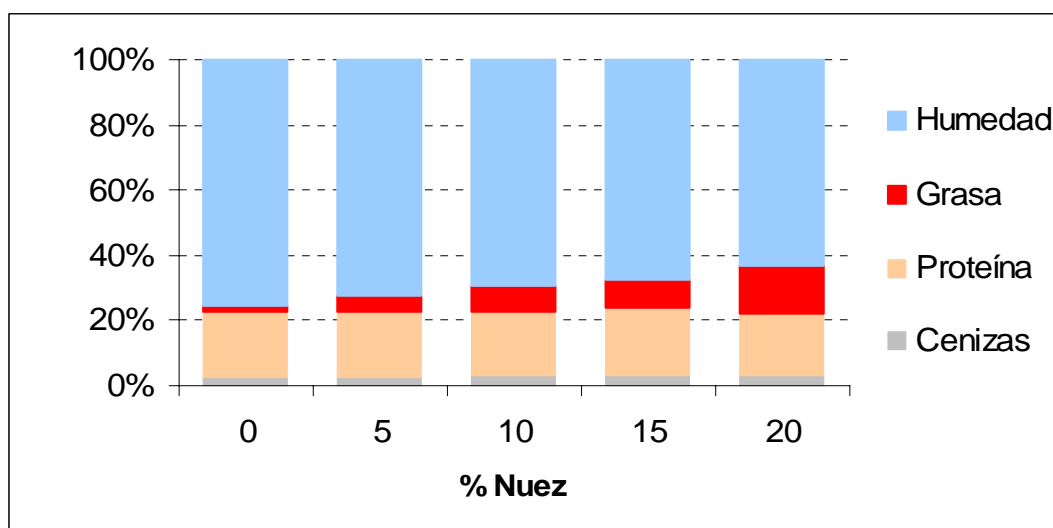


Figura IV.7. Componentes mayoritarios de los reestructurados elaborados en función del porcentaje de nuez adicionada (**Capítulos I.1, I.2, I.3, II.1, III.1, III.2 y Anexo I**).

La incorporación de nuez afecta los **componentes mayoritarios** de los reestructurados elaborados (**Capítulos I.1: Tabla 2, I.2: Tabla 2, I.3: Tabla: 2, II.1: Tabla 2; III.1: Tabla 1; III.2: Tabla 2 y Anexo I: Tabla 1**), reflejado claramente en un aumento ($P < 0,05$) progresivo en los valores de grasa total hasta alrededor del 13 % en las muestras con 20 % de nuez (20W), y una disminución ($P < 0,05$) de la humedad (en la misma proporción en que aumenta la grasa) (Figura IV.7). Por el contrario, el contenido en proteína y cenizas permanecieron constantes ($P > 0,05$) (Figura IV.7). En el producto 20W parte la proteína (aprox. 15 %) y una mayor proporción de grasa (aprox. 90 %) proceden de la nuez. La incorporación de nuez también aporta fibra dietética, estimada a partir de la composición de la nuez en alrededor del 1 % (USDA, 2004).

La estimación del **aporte calórico** de los filetes reestructurados fue de 99 kcal/100 g para las muestras control y 213 kcal/100 g en las muestras con un 20 % de nuez (aprox. 62 % procedente de la grasa) (**Capítulo II.1: Tabla 2**).

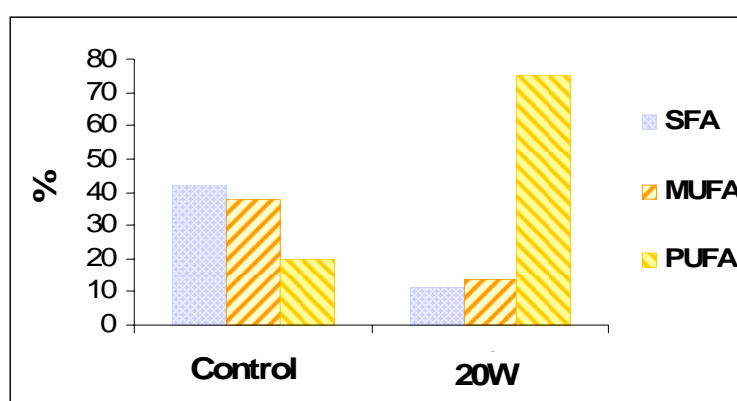
La incorporación de nuez causó varios cambios en el **perfil de aminoácidos** (**Capítulo II.1: Tabla 3**). Se produjo un aumento ($P < 0,05$) en los niveles de valina, tirosina, alanina, siendo éste particularmente elevado en el caso de arginina. Estos cambios pueden atribuirse a factores tales como el contenido en proteínas de los reestructurados, o la proporción de proteínas de la nuez y su perfil de aminoácidos. Las nueces son una buena fuente de proteínas ricas en arginina, que es un precursor del óxido nítrico, y por tanto un potente vasodilatador que puede inhibir la adhesión y agregación plaquetaria (Sabaté *et al.*, 1993). A pesar que las proteínas animales también tienen arginina, las de origen vegetal poseen mucha mejor biodisponibilidad, ya que en éstas la relación lisina/arginina es menor. Las proteínas de vacuno tienen una relación lisina/arginina próxima a 1,3 (Pellett & Young, 1990; USDA, 2004), similar a la obtenida en la muestra control (**Capítulo II.1: Tabla 3**). La incorporación de un 20 % de nuez provocó una disminución ($P < 0,05$) hasta niveles de 1,06. Algunos estudios sostienen la hipótesis de que la arginina o la baja relación lisina/arginina disminuyen la aterosclerosis y proporcionan efectos beneficiosos en la prevención del fallo cardíaco, presión arterial e infarto (Feldman, 2002).

Como era de esperar, la presencia de nuez condicionó el **perfil de ácidos grasos** de los filetes reestructurados elaborados (**Capítulo II.1: Tabla 4**). Los ácidos grasos más abundantes en la muestra control (todo carne) fueron SFA, seguidos de MUFA y PUFA que representaron aproximadamente el 58 % del total (Figura IV.8). Los resultados fueron similares a los señalados por algunos autores para vacuno magro (Raes *et al.*, 2003; Raes *et al.*, 2004a; 2004b). La carne empleada está constituida por lípidos fundamentalmente de origen intramuscular, este tipo de grasa contiene pequeñas proporciones de SFA y MUFA, y elevadas de PUFA, comparada con la grasa de depósito (Raes *et al.*, 2004a). Así, los cortes magros con grandes porcentajes de fosfolípidos, tiene elevados niveles de PUFA (Badiani *et al.*, 2002).

La incorporación de nuez provocó una disminución ($P < 0,05$) en el porcentaje de SFA y MUFA, junto a un aumento ($P < 0,05$) de PUFA (Figura IV.8), principalmente de los ácidos grasos esenciales LA (C18:2 *n-6*) y LNA (C18:3 *n-3*) que

representaron las tres cuartas partes de los ácidos grasos presentes. La suma de MUFA y PUFA alcanzó al menos el 90 % del total de ácidos grasos (Capítulo II.1: Tabla 4). El elevado contenido en ácidos grasos de las muestras con nuez, se puso en evidencia al analizar los ácidos grasos individualmente (mg/100 g de producto). Los aumentos producidos están en consonancia con el tipo de formulación y el perfil de la grasa de las nueces (aprox. 63 % grasa), rica en MUFA y PUFA (LA y LNA, representan 58 % y 12 % respectivamente, del total de ácidos grasos) (Sabaté, 1993; Ravai, 1995; Moreiras *et al.*, 2003; USDA, 2004).

Figura IV.8. Porcentaje de ácidos grasos totales (%) presentes en los filetes reestructurados control (0 % nuez) y 20W (20 % nuez).



La incorporación de 20 % de nuez supuso que la presencia de MUFA alcanzase valores de 1,8 g/100 g de filete. Los PUFA *n-3* que contienen las muestras 20W fueron 90 veces superiores a los existentes en las muestras control, principalmente debido a la presencia de LNA. La nuez es la fuente principal de este ácido graso aparte del PUFA *n-3* de origen marino (Albert *et al.*, 2002). Debido a que la síntesis de los ácidos grasos PUFA *n-3*, EPA (C20:5 *n-3*) y DHA (C22:6 *n-3*) está limitada en el organismo humano, y a la conveniencia de mantener una relación PUFA *n-6/n-3* inferior a 4, se ha recomendado el consumo de más de 2 g/día de PUFA *n-3* (Barroetta & Cortinas, 2004), cantidad que está muy próxima a lo que aportan 100 g de reestructurado con 20 % de nuez. Se ha destacado el efecto beneficioso de estos ácidos grasos en la prevención de algunos de los cánceres más comunes (estómago y colon), artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino y ECV (Hoz *et al.*, 2004). Por otro lado, se ha observado que sobre algunas funciones metabólicas, puede ser más importante el balance en la relación PUFA *n-6* y *n-3*, que el consumo de los ácidos grasos individuales. Diversos estudios sugieren que un incremento en el consumo de *n-6* y una relativa deficiencia en *n-3* (no el colesterol), suponen el principal factor de riesgo para

sufrir cáncer, ECV y enfermedades cerebrovasculares (Okuyama & Ikemoto, 1999). La dieta de los países occidentales con frecuencia aporta niveles elevados de PUFA *n-6* y bajos de PUFA *n-3*, por lo que el desarrollo de este tipo de elaborados cárnicos, con una relación más favorable de estos ácidos grasos, podría ayudar a solventar este problema (Surai & Sparks, 2001; Higgs & Mulvihill, 2002). La **relación PUFA *n-6/n-3*** del reestructurado control fue de 10,2, próximo a lo descrito por algunos autores para vacuno (Okuyama & Ikemoto, 1999; Badiani *et al.*, 2002), encontrándose un balance ($n-6/n-3 < 4$) más favorable ($P < 0,05$) en las muestras con nuez (**Capítulo II.1: Tabla 4**).

La **relación PUFA/SFA** es otro parámetro importante para evaluar la calidad nutricional de la fracción lipídica de los alimentos. El valor recomendando para este índice se sitúa por encima de 0,4-0,5 (Wood *et al.*, 2003) y es próximo a 0,1 en la carne de rumiantes (Enser, 2000; Badiani *et al.*, 2002). En tal sentido, se han empleado diversas estrategias para proporcionar a la carne un valor más próximo al recomendado (Raes *et al.*, 2003; Wood *et al.*, 2003; Raes *et al.*, 2004a). En la muestra control esta relación fue de 0,47, originando un incremento de hasta seis veces con la incorporación de nuez (**Capítulo II.1: Tabla 4**).

Los **índices aterogénico** y **trombogénico** de las muestras control fueron más bajos (0,53 y 1,22, respectivamente), que los indicados por algunos autores para carne de vacuno (entre 0,75-0,79 y 1,60-1,85, respectivamente) (Badiani *et al.*, 2002). La incorporación de nuez provocó una reducción ($P < 0,05$) en ambos índices (**Capítulo II.1: Tabla 4**).

El contenido en **colesterol** de las muestras elaboradas con 100 % de carne (control) fue más elevado ($P < 0,05$) que en los filetes con nuez y similar al indicado en otros estudios para vacuno magro (USDA, 2004) y reestructurados de vacuno (Kim *et al.*, 2000) (**Capítulo II.1: Tabla 4**). La sustitución de carne por nuez en las muestras 20W, originó la disminución ($P < 0,05$) del contenido en colesterol. Así, la ingesta de 100 g de este producto (20W) proporciona alrededor del 12,5 % del consumo máximo recomendado por la OMS (2003) (Tabla I.1).

El análisis detallado de los diferentes isómeros de la **vitamina E** presentes en los reestructurados permitió establecer diversas consideraciones (**Capítulo II.1: Tabla 5**). Por un lado, el contenido en α -tocoferol de los filetes reestructurados control fue más

bajo que los valores indicados en otros estudios para la carne de vacuno, generalmente entre 0,20-0,65 mg/100 g (Souci *et al.*, 1989; CESNID, 2004; USDA, 2004). Este efecto se puede atribuir a las condiciones de formulación de los productos, elaborados con carne magra y un 10 % de agua. Por otro lado, la incorporación de nuez (20 %) duplicó el contenido en α -tocoferol y aumentó el de γ -tocoferol alrededor de 400 veces en relación con la muestra control (**Capítulo II.1: Tabla 5**). Generalmente en las tablas de composición de alimentos hay pocas referencias a los distintos isómeros de la vitamina E (γ -tocoferol, δ -tocoferol, etc.). Este hecho posiblemente puede deberse a que estos isómeros no parecen contribuir de forma significativa a las necesidades de esta vitamina [RDA ¹ 15 mg de α -tocoferol/día (IOM, 2001) e IR ¹ de 12 mg de α -tocoferol/día (Moreiras *et al.*, 2003), tanto para hombres como para mujeres adultos], ya que a pesar de que son absorbidos no se convierten en α -tocoferol y son reconocidos pobremente por la α -tocoferol transferasa en el hígado (IOM, 2000). A pesar de ello, ha sido observada cierta actividad antioxidante no sólo en α -tocoferol, sino también en γ -tocoferol y δ -tocoferol (Christen *et al.*, 1997; Jiang *et al.*, 2001). En este sentido, se ha observado que el γ -tocoferol es capaz de capturar especies reactivas de nitrógeno que se producen en el lugar de la inflamación (como peroxinitritos) involucradas en la aterogénesis, de forma más efectiva que el α -tocoferol (Jiang *et al.*, 2001). Además, el γ -tocoferol puede aumentar la producción de óxido nítrico y la expresión de la enzima óxido nítrico sintetasa endotelial, lo cual sugiere que este isómero puede ser importante en la prevención de la disfunción endotelial (Carr & Frei, 2000; Jiang *et al.*, 2001), siendo por ello de gran interés como agente preventivo de ECV (Olmedilla *et al.*, 2006).

La incorporación de un 20 % de nuez también modifica la concentración de alguno de los **minerales** presentes en los reestructurados (**Capítulo II.1: Tabla 6**). En tal sentido, se produce un aumento significativo en el contenido en hierro, calcio, magnesio y manganeso, mientras que la concentración de potasio y cinc no se vio afectada ($P > 0,05$) (**Capítulo II.1: Tabla 6**). Estos resultados pueden explicarse en base a la contribución relativa de la carne y de la nuez en cada formulación, ya que la nuez contiene más hierro, calcio, magnesio y manganeso que la carne (Ravai, 1995; Moreiras *et al.*, 2003; USDA, 2004), a pesar de ser menos biodisponibles.

La cantidad de **hierro** aportada por 100 g de producto (tanto control como 20 % nuez), supone entre el 11 y el 32 % de las ingestas recomendadas (Tabla IV.1). Su

¹ Ver tabla IV.1 para la definición de RDA e IR.

procedencia, mayoritariamente de la carne, garantiza una alta biodisponibilidad, de ahí que el reestructurado elaborado pueda ser importante para los grupos de riesgo con necesidades incrementadas de este mineral o con una baja ingesta. La deficiencia de hierro es la carencia nutricional más prevalente a nivel mundial, tanto en los países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo (Neumann *et al.*, 2002).

Tabla IV.1. Aporte de los minerales más abundantes en los reestructurados a las ingestas recomendadas de adultos.

Minerales	Control (%)	20W (%)	RDA (mg/día)	IR (mg/día)
Hierro	20-26	26-32	8 (♂ y ♀ postmenopausia)	10 (♂ y ♀ postmenopausia)
	11	14	18 (♀ edad fértil)	18 (♀ edad fértil)
Cinc	26-48	26-49	8 (♀ edad fértil y postmenopausia)	15 (♀)
	26-35	26-36	11 (♂)	15 (♂)
Magnesio	6	12-13	310-320 (♀)	330 (♀)
	4-6	9-12	400-420 (♂)	350 (♂)
Manganeso	< 4	35	1,8 (♀)	-
	< 3	27	2,3 (♂)	-

RDA, Ingestas recomendadas para la población americana (IOM, 2000).

IR, Ingestas recomendadas para la población española (Moreiras *et al.*, 2003).

♂, hombres entre 17 y > 70 años. ♀, mujeres entre 17 y > 70 años (**edad fértil**, entre 19-50 años y **postmenopausia**, entre 50 > 70 años). **Control**, 0 % nuez. **20W**, 20 % nuez.

La carne es una de las mejores fuentes de **cinc**, por ello ambas muestras presentaron concentraciones similares ($P > 0,05$), siendo éstas de elevada biodisponibilidad debido a su origen cárnico mayoritario (**Capítulo II.1: Tabla 6**). Además, esta biodisponibilidad, aún procedente de otras fuentes, puede ser aumentada (como en el caso del hierro) por su consumo junto a proteína cárnica (Higgs, 2000; Mulvihill, 2004). Cada 100 g de producto proporciona niveles entre 26 y 49 % de las ingestas recomendadas de este mineral (Tabla IV.1). Debido a los amplios efectos que supone la carencia de cinc sobre la morbilidad, mortalidad, crecimiento y desarrollo, se ha sugerido la conveniencia de prestar más atención a la mejora de la calidad de la dieta (aporte de cinc naturalmente presente o suplementado), con el fin de hacer frente a esta severa deficiencia (Neumann *et al.*, 2002).

La incorporación de nuez duplicó ($P < 0,05$) la cantidad de **magnesio** en relación con la de la muestra control (**Capítulo II.1: Tabla 6**). Esto significa que 100 g de 20W pueden aportar alrededor de 12 % de las ingestas recomendadas (Tabla IV.1). Se considera que la carne posee un nivel intermedio de magnesio, por lo que con este

enriquecimiento puede incrementar su contribución a la dieta. Este aspecto es de suma importancia ya que la deficiencia de dicho mineral puede comprometer su múltiples funciones, algunas de ellas relacionadas con el aparato cardiovascular (Albert *et al.*, 2002).

La carne es una fuente pobre en **manganeso**, sin embargo, su presencia es elevada en la nuez, por ello la formulación de productos cárnicos con este fruto seco, proporciona una buena oportunidad para mejorar la contribución relativa de manganeso en los derivados cárnicos. En tal sentido, el contenido de manganeso en las muestras con nuez fue entorno a nueve veces la del control ($P < 0,05$) (**Capítulo II.1: Tabla 6**). Aunque el manganeso se considera un nutriente esencial como activador de enzimas (forma parte de varias metaloenzimas) no ha sido detectada una deficiencia clínica asociada a su bajo consumo (IOM, 2001). Cabe señalar que 100 g de filetes reestructurados de vacuno con 20 % de nuez, puede proporcionar más de la cuarta parte de las ingestas recomendadas (Tabla IV.1).

Los resultados de este estudio revelan que los reestructurados cárnicos con 20 % de nuez, contienen niveles importantes de ciertos compuestos biológicamente activos, cuya ingesta puede proporcionar potenciales beneficios cardiosaludables. No obstante, ya que el mero cambio de composición de un alimento no garantiza su comportamiento como alimento funcional, su función debe ser demostrada. Para evaluar tal efecto, investigadores del Hospital Universitario Puerta de Hierro y de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, están realizando estudios en humanos en relación con aspectos de biodisponibilidad e impacto sobre biomarcadores intermediarios de riesgo cardiovascular.

IV.3.- Estabilidad durante la conservación.

La carne y sus derivados son "alimentos perecederos", por lo que para su conservación es imprescindible adoptar una serie de medidas encaminadas a retrasar o prevenir alteraciones de carácter microbiológico, químico y físico que deterioran su calidad y los hacen inaceptables para el consumo. En consecuencia, tras la elaboración de reestructurados con nuez con aceptables características tecnológicas y sensoriales y una vez evaluado su perfil nutricional, resulta de especial interés el análisis del efecto de la presencia de nuez sobre la estabilidad del producto durante el periodo de conservación. En tal sentido, se han estudiado diversos factores asociados a la naturaleza y composición del producto, que pueden afectar su modelo de deterioro en función de las condiciones de comercialización: fundamentalmente refrigeración (**Capítulos I.3, III.1 y Anexo I**) y congelación (**Capítulo III.2**).

La **conservación en refrigeración** consiste en mantener el producto a temperaturas óptimas de conservación, sin producir la formación de cristales de hielo en su estructura (aprox. 0-5 °C). En estas condiciones la estabilidad de los reestructurados es escasa y el proceso de conservación se limita a periodos de tiempo relativamente cortos. La acción del frío reduce, pero no inhibe el desarrollo de los agentes de deterioro, en especial la proliferación de microorganismos que es habitualmente el factor limitante de la conservación en refrigeración. La vida útil del producto en refrigeración puede alargarse cuando se emplean diferentes coadyuvantes del frío, como por ejemplo envasados en películas plásticas, bien a vacío o en atmósferas modificadas. Las principales modificaciones que experimentan la carne y los productos derivados durante su conservación en estas condiciones, son debidas a procesos físico-químicos, bioquímicos y al desarrollo de microorganismos. Por ello, los estudios realizados sobre **reestructurados refrigerados**, se han dividido en dos partes, por un lado el análisis de sus propiedades físico-químicas (pérdidas de peso, efectos sobre la textura, cambios de color, etc.) y sensoriales (**Capítulos I.3 y Anexo I**), y por otro, el estudio del desarrollo microbiano y su implicación en la formación de aminas biógenas (**Capítulo III.1**).

El primer punto analizado fueron las propiedades físico-químicas de los productos formulados. La liberación de exudado durante el almacenamiento en refrigeración es uno de los principales problemas durante la comercialización de

productos en fresco. Su presencia no sólo hace al producto desagradable para el consumidor, sino que además puede favorecer el crecimiento de microorganismos. Las **pérdidas de peso durante la conservación** inicialmente fueron cinco veces superiores ($P < 0,05$) en el producto control con respecto a los que contenían un 20 % de nuez y se incrementaron ($P < 0,05$) en todas las formulaciones (sin sal) durante el periodo de conservación (6 días) (**Capítulo I.3: Tabla 5**). Como se ha comentado anteriormente la incorporación de nuez originó una reducción ($P < 0,05$) de estas pérdidas. Asimismo, las pérdidas fueron aún menores ($P < 0,05$) en las muestras a las que se incorporó sal, manteniéndose estables ($P > 0,05$) durante el principio de la conservación (inicial y día 2) (**Capítulo I.3: Tabla 5 y Anexo I: Figura 1.A**). Existe poca información acerca de niveles de exudado en filetes reestructurados. En general, se han descrito pérdidas de peso de alrededor de 3,5-4,5 %, que pueden dar lugar a productos cárnicos de apariencia inaceptable (López-Caballero *et al.*, 1999). Algunos autores han descrito pérdidas de hasta un 10 % en derivados de carne de cerdo refrigerados (durante 15 días a 4 °C) (Devatkal & Mendiratt, 2001).

Las **pérdidas de peso por cocción** fueron reducidas ($P < 0,05$) con la incorporación de nuez (discutido anteriormente), manteniéndose estables ($P > 0,05$) a lo largo del periodo de conservación en refrigeración. Éstas también disminuyeron con la incorporación de sal ($P < 0,05$), al igual que lo sucedido con las pérdidas por conservación (**Capítulo I.3: Tabla 5 y Anexo I: Figura 1.B**). En cuanto a las **pérdidas de peso total**, a pesar de ser más bajas ($P < 0,05$) con la incorporación de nuez y sal, se incrementaron ($P < 0,05$) durante la conservación en refrigeración, a excepción de las muestras con sal que se mantuvieron estables ($P > 0,05$) (**Capítulo I.3: Tabla 5**).

La **textura** del producto refrigerado experimentó un endurecimiento significativo (BS mayor) en todos los productos formulados, a lo largo del periodo de conservación (**Capítulo I.3: Tabla 6**). Este aumento en BS puede ser explicado por diferentes factores. En primer lugar, las pérdidas de peso total aumentaron durante la conservación, originando productos más rígidos y de difícil penetración (Shao *et al.*, 1999). Por otro lado, la actividad residual de la MTG después de 24 h, podría haber generado reacciones de unión adicionales, incrementando la unión de las partículas de carne (Carballo *et al.*, 2005). Sin embargo, esto resulta difícil de comparar con la literatura, debido a que en la mayoría de los estudios disponibles la MTG se deja actuar tiempos máximos desde pocas horas hasta 24 h, siendo el producto cocinado tras este

tiempo de reacción y antes de su análisis (Chen *et al.*, 1998; Pietrasik & Li-Chan, 2002; Ruiz-Carrascal & Regenstein, 2002; Kilic, 2003; Pietrasik, 2003).

El **color** de los productos se modificó durante su conservación en refrigeración, si bien su magnitud relativa estuvo condicionada por el tipo de formulación (**Capítulo I.3: Tabla 4 y Anexo I: Tabla 2**). En tal sentido, se observó una disminución ($P < 0,05$) del parámetro “L*” y un incremento ($P < 0,05$) de “a*”, excepto en el caso de las muestras con un 10 % de nuez y con sal, en las que “a*” tuvo un descenso significativo. En cuanto al efecto sobre el parámetro “b*”, se observó un incremento ($P < 0,05$) el 6° día de conservación, en el caso de las muestras 0 y 10 % de nuez (sin sal), mientras el resto no presentaron cambios significativos (**Capítulo I.3: Tabla 4**).

Debido a factores asociados a la composición, tipo de producto y procesos de elaboración, los reestructurados cárnicos frescos (gelificados con MTG/C), pueden presentar elevados niveles de microorganismos, que van a favorecer el deterioro del producto, así como la formación de ciertos compuestos, como las aminas biógenas. El consumo de alimentos con elevadas concentraciones de estas aminas, ha sido relacionado como causante de algunos problemas de salud como migrañas, dolores de cabeza y problemas gástricos, entre otros (Smith, 1980; Taylor, 1985; Stratton *et al.*, 1992). Sin embargo, la carne también posee algunas aminas biógenas endógenas (poliaminas), como espermidina y espermina, que juegan un papel importante en procesos fisiológicos, metabolismo y regeneración celular, así como en procesos de crecimiento y diferenciación (Bardócz *et al.*, 1995). En este sentido, se realizó este estudio evaluando la carga microbianas, la formación de aminas biógenas y la posible relación entre ellas (**Capítulo III.1**).

En relación con el **análisis microbiano**, el recuento inicial de viables totales en las muestras sin nuez fue de 6 log ufc/g, y las bacterias ácido lácticas 5,2 log ufc/g (**Capítulo III.1: Tabla 2**). Esto pudo deberse al hecho de que los filetes fueron envasados al vacío y conservados en refrigeración entre 18 a 20 h antes del análisis inicial, limitando el crecimiento de la flora psicrotrofa. Por otro lado, el recuento de *Enterobacteriaceae*, no superó el valor de 3,2 log ufc/g en ninguna de las muestras analizadas. Bradford *et al.* (1993) y Egbert *et al.* (1992), observaron niveles similares de viables totales en salchichas frescas de cerdo y vacuno picado (6,7 y 5,3 log ufc/g, respectivamente). La incorporación de nuez no afectó ($P > 0,05$) al recuento inicial de

ninguno de los microorganismos estudiados. Por otro lado, independientemente de la formulación, el recuento de viables totales y bacterias ácido lácticas, se incrementó significativamente ($P < 0,05$) durante el tiempo de refrigeración hasta un máximo de 7,7 y 7,6 log ufc/g, respectivamente (**Capítulo III.1: Tabla 2**). Este comportamiento podría estar relacionado con el hecho de que los productos estaban envasados al vacío, condiciones que favorecen el crecimiento de bacterias ácido lácticas y evita el de otras como las *Pseudomonas*. La refrigeración (2 días) dio lugar al crecimiento ($P < 0,05$) de *Enterobacteriaceae*. La influencia de la incorporación de nuez sobre el crecimiento de microorganismos, sólo fue apreciable al cabo de 6 días en refrigeración, alcanzándose entonces el valor máximo ($P < 0,05$) en el recuento de viables totales y bacterias lácticas. Sin embargo, no hay una relación evidente entre el porcentaje de nuez añadido y los recuentos iniciales de microorganismos (**Capítulo III.1: Tabla 2**).

Existen varios aspectos a destacar en relación con la presencia de **aminas biógenas** en los filetes reestructurados. En primer lugar, la espermina presentó inicialmente los niveles más elevados (aprox. 40 mg/kg), independientemente de la formulación analizada (**Capítulo III.1: Tabla 3**). Asimismo, las concentraciones iniciales de espermidina fueron también elevadas, sobretodo en las muestras con un 20 % de nuez (5,74 mg/kg). El nivel inicial de tiramina se situó entre 7,18 y 8,27 mg/kg (**Capítulo III.1: Tabla 3**), similar a lo indicado para hamburguesas de vacuno picado después de algunos días de almacenamiento a 4 °C (Sayem-El-Daher *et al.*, 1984). La cadaverina fue la única amina que no se detectó inicialmente, y el resto de las aminas analizadas (histamina, putrescina y agmatina) aparecieron en pequeñas concentraciones (**Capítulo III.1: Tabla 3**). Resultados similares han sido mostrados por Hernández-Jover *et al.* (1996) y Sayem-El-Daher *et al.* (1984), en vacuno crudo y picado, respectivamente, aunque detectaron concentraciones más bajas de histamina y putrescina. La concentración de la mayoría de las aminas biógenas se incrementó ($P < 0,05$) con el tiempo de conservación (**Capítulo III.1: Tabla 3**). Tiramina aumentó ($P < 0,05$) progresivamente entre 8 y 19 veces su concentración inicial a los 6 días. Por contra, el incremento en histamina, putrescina, cadaverina y agmatina aunque significativo, sólo se produjo hacia el final del periodo de conservación. Por otro lado, espermidina y espermina cuantitativamente experimentaron escasas variaciones durante la conservación. La concentración de espermidina, espermina y putrescina aumentó ($P < 0,05$) con el porcentaje de nuez incorporada (**Capítulo III.1: Tabla 3**). Durante la

conservación la presencia de nuez favoreció la formación de tiramina, histamina, putrescina y cadaverina, efecto más notable al final del periodo de conservación. Sin embargo, la incorporación de nuez no afectó ($P > 0,05$) la concentración de agmatina presente, mientras que en la espermina se observó una disminución ($P < 0,05$) al final del periodo de conservación (día 6) (**Capítulo III.1: Tabla 3**).

La formación y concentración de algunas aminas biógenas está relacionada con la cantidad y tipo de microorganismo presente en el producto, y el envasado empleado. En este sentido, los altos niveles de tiramina encontrados, se relacionan con los elevados recuentos de bacterias ácido lácticas (**Capítulo III.1: Tabla 3**). Masson *et al.* (1996), observaron que *Lactobacillus curvatus*, *L. plantatum* y *Carnobacterium spp.* fueron responsables de la formación de tiramina en carne de cerdo. Por otro lado, Edward *et al.* (1987) indicaron que durante la conservación al vacío de carne de vacuno, resulta necesaria la acción combinada de las bacterias ácido lácticas y *Enterobacteriaceae* para la formación de putrescina, mientras que *Enterobacteriaceae* favorece la formación de cadaverina. En los reestructurados analizados se observan bajos niveles de histamina, cadaverina y putrescina, junto a bajos recuentos de *Enterobacteriaceae* (**Capítulo III.1: Tabla 3**).

En general, la formación de aminas biógenas y el crecimiento de microorganismos están favorecidos por la incorporación de nuez y la conservación en refrigeración. Las elevadas concentraciones de las aminas espermidina y espermina junto a la incorporación de nuez, pueden tener potenciales efectos beneficiosos para la salud (Bardócz *et al.*, 1995). Por otro lado, la presencia de aminas potencialmente tóxicas fue baja.

El principal propósito de la **conservación en congelación** es mantener la calidad y la vida útil del producto durante periodos de tiempo más largos de lo que sería posible a más altas temperaturas, al lentificar las reacciones químicas y bioquímicas. Sin embargo, a lo largo del periodo de conservación, los productos experimentan una pérdida de calidad gradual, acumulativa e irreversible. Incluso en las mejores condiciones de conservación tiene lugar dicha pérdida de calidad que va asociada al desarrollo de diversos tipos de alteraciones. La magnitud y modelo de deterioro originado está claramente determinado por las características del producto

(composición), por el procesado a que ha sido sometido, y en especial, por el alejamiento de las condiciones óptimas de conservación. No obstante, el factor limitante en este caso no sería de origen microbiano, sino otros fenómenos como los procesos asociados a la oxidación de los lípidos, desnaturalización y agregación proteica. La congelación provoca cambios químicos y estructurales en los productos cárnicos, principalmente en las características de las proteínas, dando lugar a una disminución de su aptitud tecnológica (Awad *et al.*, 1968; Miller *et al.*, 1980), afectando negativamente a varios de sus atributos de calidad (textura, propiedades ligantes de agua y grasa, características sensoriales, etc.) (Miller *et al.*, 1980; Jiménez Colmenero *et al.*, 1995). Dentro de este contexto, el estudio de la estabilidad de los **reestructurados congelados**, se ha planteado analizando por un lado las modificaciones en sus propiedades físico-químicas (propiedades ligantes, cambios dimensionales, efectos sobre la textura y color) y sensoriales y por otro, evaluando la velocidad y extensión del proceso de oxidación lipídica (**Capítulo III.2**).

Como consecuencia de los cambios físico-químicos inducidos durante la congelación (junto con los que tienen lugar por efecto de la recristalización), a lo largo de la conservación tiene lugar la *desnaturalización y agregación proteica*. Su importancia radica en que ello va en detrimento de propiedades gelificantes, emulsionantes, capacidad de retención de agua (agua que es liberada durante la descongelación), modificación de la textura de la carne, etc. En productos cárnicos este deterioro se manifiesta en problemas de calidad del producto al descongelarlo y someterlo a los habituales procesos culinarios. El estudio de los cambios que experimentan los reestructurados cárnicos a lo largo de la conservación revela la importancia de estos fenómenos.

Las **pérdidas de peso durante la descongelación** de los reestructurados fueron bajas (< 1 %) independientemente de la formulación del producto analizado (**Capítulo III.2: Tabla 4**), igual a lo observado en el **capítulo I.1 (Tabla 3)**. De igual modo, las pérdidas experimentaron escasos incrementos a lo largo del periodo de conservación (128 días a -20 °C). Sin embargo, algunos autores han observado aumentos en las pérdidas de peso durante la descongelación, en carne picada de vacuno y cerdo (Bhattacharya *et al.*, 1988a; Brewer & Harbers, 1991). Las **pérdidas de peso por cocción** no se vieron afectadas por el tiempo de conservación ($P > 0,05$). Mientras que algunos autores han encontrado aumentos en tal parámetro en productos cárnicos

congelados a medida que avanzaba el periodo de conservación (Bhattacharya *et al.*, 1988a; Jacobs & Sebranek, 1980; McMillin *et al.*, 1991), otros, al igual que lo observado en este estudio, no encontraron estas variaciones en filetes reestructurados de vacuno (Esguerra, 1994).

El periodo de conservación en congelación no tuvo efecto ($P > 0,05$) sobre los **cambios dimensionales** de los reestructurados (**Capítulo III.2: Tabla 4**). Este comportamiento se puede ver afectado por las características del producto (tipo de formulación), el tiempo y las condiciones de almacenamiento y fue similar al observado en las pérdidas de peso por cocción (**Capítulos I.1: Tabla 3 y III.2: Tabla 4**).

La **textura** de los reestructurados elaborados en este capítulo no se vio afectada significativamente por el periodo de conservación en congelación (128 días) (**Capítulo III.2: Tabla 4**).

Estos resultados evidencian el escaso efecto que ejerce el periodo de conservación en congelación sobre las propiedades físico-químicas (pérdidas por descongelación y por cocción, cambio dimensional, KSF y BS) de este tipo de reestructurados. Esto permite señalar que en las condiciones ensayadas, la desnaturalización y agregación no han alcanzado niveles tales que limiten la aptitud tecnológica de las proteínas y en consecuencia los atributos de calidad del producto. Este mismo tipo de comportamiento ha sido descrito en estudios realizados por otros autores (Esguerra, 1994; Wang *et al.*, 1999).

La considerable estabilidad de los productos formulados es coherente con los resultados del **análisis sensorial**, que puso en evidencia que la conservación durante 92 días no tuvo efecto negativo sobre su valoración sensorial (**Capítulo III.2: Tabla 7**).

Comportamiento diferente ha experimentado el **color** de los productos. Mientras que la conservación en congelación no tuvo efecto ($P > 0,05$) sobre los parámetros “L*” y “b*”, el valor de “a*” disminuyó ($P < 0,05$) durante el tiempo de conservación en todas las muestras. La velocidad de decoloración (disminución de “a*”) fue mayor ($P < 0,05$) en el reestructurado control. Este comportamiento puede estar relacionado con diferencias en el contenido en mioglobina (menor en las muestras con nuez) y vitamina E (mayor en las muestras con nuez) (**Capítulo II.1: Tabla 5**). Se ha observado que la vitamina E puede ejercer un efecto estabilizador del color por varios mecanismos

(Houben *et al.*, 2000). Diferentes son los efectos encontrados acerca de la conservación en congelación sobre el color de los productos cárnicos, si bien en la mayoría de los casos, son similares a los encontrados en este experimento (Bhattacharya *et al.*, 1988a; Akamittath *et al.*, 1990; Chen & Trout, 1991; Brewer & Wu, 1993; Bullock *et al.*, 1994; Demos & Mandingo, 1996).

La **oxidación lipídica** es la mayor causa de deterioro de la calidad de los productos cárnicos durante su conservación en congelación. Su velocidad y extensión puede depender de factores tales como el incremento en las insaturaciones de los lípidos, la presencia de oxígeno (favorecido por la desintegración estructural), sal, etc. Los cambios en la composición inducidos por la incorporación de nuez, pueden afectar a la susceptibilidad de los productos cárnicos a la oxidación lipídica. Sin embargo, los resultados obtenidos indican que la extensión de la oxidación lipídica durante la conservación en congelación permanece relativamente baja (**Capítulo III.2: Tabla 6**). Inicialmente, la oxidación fue mayor en los reestructurados con nuez que en los control, efecto que puede estar relacionado con el contenido en grasa (nuez). En la muestra control el valor de TBARS aumentó ($P < 0,05$) durante los primeros 72 días, después disminuyó ($P < 0,05$) hasta el día 92. Este patrón de comportamiento (un máximo seguido de un descenso del valor de TBARS), ha sido descrito por varios autores (Bhattacharya *et al.*, 1988b; Brewer & Wu, 1993), y puede ser debido a la interacción entre algunas proteínas de la carne y las sustancias que reaccionan con el TBA (Bhattacharya *et al.* 1988b). Por otro lado, las muestras con nuez no presentaron cambios ($P > 0,05$) apreciables en los valores de TBARS durante el tiempo de conservación. La menor concentración de pigmentos cárnicos en las muestras con nuez presumiblemente favoreció la estabilidad lipídica, mientras que otros factores tales como un mayor contenido en grasa y una mayor relación PUFA/SFA (**Capítulo II.1: Tabla 4**), pudieron haber inducido el efecto contrario. La estabilidad oxidativa de los reestructurados con nuez puede estar relacionada con el incremento en la concentración de componentes presentes en la nuez, alguno de los cuales son antioxidantes (α -tocoferol, γ -tocoferol y δ -tocoferol) (**Capítulo II.1: Tabla 5**). La vitamina E, bien por estrategias de producción animal o por la incorporación directa en el producto, puede ejercer actividad como antioxidante en los productos cárnicos congelados (Lanari *et al.*, 1994; Channon & Trout, 2002). Asimismo, el empleo de una mezcla de isómeros de tocoferol (presente en algunos productos de origen vegetal), puede ser más efectivo en

la prevención de la oxidación lipídica de alimentos de origen animal, ya que algunos de estos isómeros tienen una actividad antioxidante superior al α -tocoferol (Channon & Trout, 2002).

Si bien algunos autores han encontrado una relación inversa entre la oxidación lipídica y la estabilidad del color en reestructurados cárnicos conservados en congelación (Akamittath *et al.*, 1990), los cambios observados en ambos tipos de fenómenos (**Capítulo III.2**), parecen indicar que no existe una relación evidente entre los cambios de color y la oxidación lipídica. En la muestra control, la degradación del color ocurre con antelación a la oxidación lipídica. Por otro lado, en las muestras con nuez la degradación del color no se acompaña con la oxidación lipídica.

En general cabe señalar que los filetes reestructurados congelados con nuez, a excepción de cierto proceso de decoloración (igualmente existentes en filetes control), no presentan efectos adversos sobre las características físico-químicas y sensoriales.

Algunos aspectos de la tecnología de elaboración de productos reestructurados con nuez descrita en esta memoria, así como la de otros tipos de derivados cárnicos han sido recogidos en una Patente Española (nº de solicitud 200300367), bajo el título *Productos cárnicos con compuestos bioactivos cardiosaludables incorporados mediante la adición de frutos secos, preferentemente nuez*. Asimismo, se ha realizado una ampliación de dicha patente que se recoge en el documento con nº de solicitud 200400548 (**Anexo II**).

V.- CONCLUSIONES.

V.- CONCLUSIONES.

Los resultados expuestos permiten extraer las siguientes conclusiones:

- 1.- La **incorporación de nuez** originó cambios en la naturaleza de la matriz proteica que conducen a la existencia de ciertas limitaciones (interferencias) en el proceso de gelificación por calor. Este fenómeno tiene importantes repercusiones a nivel de microestructura y de propiedades fisico-químicas, originando productos de textura más blanda, con mejores propiedades ligantes y con aceptable valoración sensorial.
- 2.- El **grado de desintegración estructural** de la materia prima cárnica, afecta en menor medida a las características fisico-químicas del producto reestructurado que la incorporación de nuez.
- 3.- El **proceso de gelificación** en frío, en base a la utilización de transglutaminasa microbiana, proporciona a los reestructurados con nuez características mecánicas capaces de soportar la manipulación a la que habitualmente se somete un filete comercializado en fresco, incluso en ausencia de sal. Sin embargo, tal proceso no favorece los mecanismos de interacción con agua o grasa, por lo que hay que poner en práctica estrategias complementarias para compensar esta carencia. La adición de sal y nuez pueden emplearse para mejorar dichas propiedades ligantes de agua y grasa. La presencia de nuez se revela como un procedimiento útil en la formulación de productos con bajo contenido en sodio.
- 4.- La incorporación de nuez dota a los reestructurados cárnicos de la presencia de **compuestos bioactivos** que les confiere características de alimento potencialmente funcional en relación con el riesgo cardiovascular. Su contribución relativa es tal que el consumo de 100 g de filete reestructurado con 20 % de nuez puede suministrar a la dieta, casi la mitad (47 %) del consumo diario recomendado de nueces por la FDA (2004).

- 5.- En general, la presencia de nuez no limita la **estabilidad en refrigeración** de los filetes reestructurados. Si bien la incorporación de nuez, el crecimiento microbiano, así como el periodo de conservación en refrigeración favorecieron la formación de aminos biógenos, los niveles presentes en los productos no plantean restricciones de consumo. Por el contrario, elevadas concentraciones de espermidina y espermina, más allá del efecto proporcionado por la incorporación de nuez, pueden dotar a los productos elaborados de adicionales efectos potencialmente beneficiosos para la salud.
- 6.- Los filetes reestructurados formulados con nuez presentan elevada **estabilidad** ya que pueden conservarse **en congelación** sin que experimenten importantes procesos de deterioro, sólo evidenciado a través de cierto proceso de decoloración. Esto implica que los fenómenos de desnaturalización y agregación no han alcanzado proporciones tales que limiten la aptitud tecnológica de las proteínas. Asimismo, a pesar de la composición del producto a nivel de cantidad de sustrato oxidable (nivel de instauración) y presencia de prooxidantes y antioxidantes, la oxidación de lípidos no constituye un factor limitante de la estabilidad del producto.

Como **conclusión general** se podría decir que se han desarrollado una gama de productos que responden a lo planteado en los objetivos, esto es, la obtención de reestructurados cárnicos formulados con nuez que, con adecuados atributos de calidad (a nivel de propiedades físico-químicas, sensoriales y de estabilidad) análogos a los de cualquier otro producto cárnico de características similares, contengan diversos componentes bioactivos asociados con la disminución del riesgo cardiovascular, que puedan conferirle características de alimento potencialmente funcional.

VI.- BIBLIOGRAFÍA.

VI.- BIBLIOGRAFÍA.

- ◆ **ACNielsen España. (2005).** <http://www.acnielsen.es>. Acceso 18/05/2005.
- ◆ **Aggett, P. J. & Comerford, J. G. (1995).** Zinc and Human Health. *Nutrition Reviews*, 53(4): S16-S22.
- ◆ **Aggett, P. J.; Antoine, J. M.; Asp, N. G.; Bellisle, F.; Contor, L.; Cummings, J. H.; Howlett, J.; Müller, D. J. G.; Persin, C.; Pijls, L. T. J.; Rechkemmer, G.; Tuijelaars, S. & Verhagen, H. (2005).** PASSCLAIM. Process for the Assessment of Scientific Support for Claims on Foods. Consensus Criteria. *European Journal of Nutrition*, 44 (Suppl.1).
- ◆ **Akamittath, J. G., Brekke, C. J. & Schanus, E. G. (1990).** Lipid oxidation and color stability in restructured meat systems during frozen storage. *Journal of Food Science*, 55 (6): 1513-1517.
- ◆ **Albert, C. M.; Gaziano, J. M.; Willett, W. C. & Manson, J. E. (2002).** Nut consumption and decreased risk of sudden cardiac death in the physicians health study. *Archives of Internal Medicine*, 162 (12): 382-1387.
- ◆ **American Dietetic Association (ADA). (2003).** The position of The American Dietetic Association on Functional Foods. http://www.eartright.org/Public/GovernmentAffairs/92_adap1099.cmf. Acceso: 15/04/2004.
- ◆ **Anónimo. (2002).** L-carnitine: Bringing health to functional foods. *Innovation in Food Technology*, 15: 14-15.
- ◆ **Ansorena, D. & Astiasarán, I. (2004a).** Effect of storage and packing on fatty acid composition and oxidation in dry fermented sausages made with added olive oil and antioxidants. *Meat Science*, 67: 237-244.
- ◆ **Ansorena, D. & Astiasarán, I. (2004b).** The use of linseed oil improves nutritional quality of the lipid fraction of dry-fermented sausages. *Food Chemistry*, 87: 69-74.
- ◆ **Arai, S. (1996).** Studies on functional foods in Japan-state of the art. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60: 9-15.
- ◆ **Archer, B. J.; Johnson, S. K.; Devereux, H. M. & Baxter, A. (2004).** Effect of replacement by inulin or lupin-kernel fibre on sausage patty acceptability, post-meal perceptions of satiety and food intake in meat. *The British Journal of Nutrition*, 91: 591-599.
- ◆ **Arihara, K. (2004).** Functional foods. In *Encyclopedia of Meat Sciences*. Jensen, W.; Devine, C. & Dikemann, M. (Eds.). Vol. I, pp. 492-499. London, UK: Elsevier Science Ltd.
- ◆ **Awad, A.; Powrie, W. D. & Fennema, O. (1968).** Chemical deterioration of frozen bovine muscle at -4°C. *Journal of Food Science*, 33: 227-235.
- ◆ **Badiani, A.; Stipa, S.; Bitossi, F.; Gatta, P.P.; Vignola, G. & Chizzolini, R. (2002).** Lipid composition, retention and oxidation in fresh and completely trimmed beef muscles as affected by common culinary practices. *Meat Science*, 60: 169-186.
- ◆ **Bardócz, S. (1995).** Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Science and Technology*, 6: 341-346.

-
- ◆ **Barroetta, A. & Cortinas, L. (2004).** Estrategias genéticas y nutricionales en la modificación de la composición de la carne. In Jiménez Colmenero, F. Sánchez- Muniz, F. & Olmedilla Alonso, B. (Eds.). La carne y productos cárnicos como alimentos funcionales. Pp. 59-74. Madrid, España: editec@red.
 - ◆ **Bast, A. & Haenen, G. R. M. M. (2002).** The toxicity of antioxidants and their metabolites. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11: 251-258.
 - ◆ **Beard, J. & Stoltzfus, R. (2001).** Foreword- Iron deficiency Anemia: Reexamining the Nature and Magnitude of the Public Health Problem. *Journal of Nutrition*, 131: 563S.
 - ◆ **Belury, M. (2002).** Not all trans-fatty acid are alike: what consumers may lose when we oversimplify nutrition facts. *Journal American Diet Association*. 102/II: 1606-1607.
 - ◆ **Berry, B. W. (1987).** Texture in restructured meats. In A. M. Pearson, & R. T. Dutson (Eds.). *Advance in meat research*. Vol. 3, pp. 271-305. New York: Van Nostrand.
 - ◆ **Berry, B. W.; Bigner-George, M. E. & Eastridge, J. S. (1999).** Hot processing and grinding size affect properties of cooked beef patties. *Meat Science*, 53 (1): 37-43.
 - ◆ **Bhattacharya, M.; Hanna, M. A., & Mandigo, R. W. (1998a).** Effect of frozen storage conditions on yields, shear strength and color of ground beef patties. *Journal of Food Science*, 53 (3): 696-700.
 - ◆ **Bhattacharya, M.; Hanna, M. A. & Mandigo, R. W. (1998b).** Lipid oxidation in ground beef patties as affected by time-temperature and product packaging parameters. *Journal of Food Science*, 53 (3): 714-717.
 - ◆ **Biesalski, H. K. (2005).** Meat as a component of a healthy diet – are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet?. *Meat Science*, 70 (3): 509-524.
 - ◆ **Bilenko, N.; Fraser, D., Vardi, H.; Shai, I. & Shahar, D. R. (2005).** Mediterranean diet and cardiovascular diseases in an Israeli population. *Preventive Medicine*, 40: 299-305.
 - ◆ **Bligh, E. G. & Dyer, W. J. (1959).** A rapid method of total lipid extractions and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.
 - ◆ **BNF (British Nutrition Foundation). (1999).** Meat in the diet. Briefing paper.
 - ◆ **Boles, J. A. & Shand, P. J. (1998).** Effect of comminution method and raw binder system in restructured beef. *Meat Science*, 49 (3): 297-307.
 - ◆ **Boles, J. A. & Shand, P. J. (1999).** Effects of raw binder system meat cut and prior freezing on restructured beef. *Meat Science*. 53 (4), 233-239.
 - ◆ **Bonanome, A. M. D. & Grundy, S. M. (1988).** Effects of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *Nutrition English Journal of medicine*, 318: 1244-1248.
 - ◆ **Booren, A. M.; Jones, K. W.; Mandigo, R. W. & Olson, D. G. (1981a).** Effects of blade tenderisation, vacuum mixing, salt addition and mixing time on binding of meat pieces into sectioned and formed beef steaks. *Journal of food Science*, 46: 1678-1680.

-
- ◆ **Booren, A. M.; Mandigo, R. W.; Olson, D. G. & Jones, K. W. (1981b).** Effect of muscle type and mixing time on sectioned and formed beef steaks. *Journal of Food Science*, 46: 1665-1668, 1672.
 - ◆ **Booren, A. M. & Mandigo, R. W. (1987).** Fundamentals of production. In Pearson A. M. & Dutson, R. T. (Eds.). *Restructured meat and poultry products, advance in meat research*. Vol. 3, pp 351-382. Van Nostrand. New York.
 - ◆ **Bradford, D. D.; Huffman, D. L.; Egbert, W. R. & Jones, W. R. (1993).** Low-fat fresh pork sausage patty stability in refrigerated storage with potassium lactate. *Journal of Food Science*, 58: 488-491.
 - ◆ **Brewer, M. S. & Harbers, C. A. Z. (1991).** Effect of packaging on physical and sensory characteristics of ground pork in long-term frozen storage. *Journal of Food Science*, 56 (3): 627-631.
 - ◆ **Brewer, M. S. & Wu, S. Y. (1993).** Display, packaging, and meat block location effects on color and lipid oxidation of frozen lean ground beef. *Journal of Food Science*, 58 (6): 1219-1223.
 - ◆ **Brown, A. & Hu, F. (2001).** Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 673-86.
 - ◆ **Bullock, K. B.; Huffman, D. L.; Egbert, W. R.; Mikel, W. B.; Bradford, D. D. & Jones, W. R. (1994).** Storage stability of low-fat ground beef made with lower value cuts of beef. *Journal of Food Science*, 59 (1): 6-9.
 - ◆ **Cáceres, E.; García, M. L.; Toro, J. & Selgas, M. D. (2004).** The effect of fructooligosaccharides on the sensory characteristics of cooked sausages. *Meat Science*, 68: 87-96.
 - ◆ **California Walnuts. (2005).** <http://www.walnut.org>. Acceso: 30/05/2005.
 - ◆ **Cambero, M. I.; López, M. O; García de Fernando, G. D.; de la Hoz, L. & Ordoñez, J. A. (1991).** Restructured meats. II. Manufacture and marketing. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 31 (4): 447-458.
 - ◆ **Cambero, M. I. (2002).** Carnes reestructuradas. In *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos*. Vol. 2, pp. 1485-1508. Ed. Martin & Macias. Plasencia. Cáceres. España.
 - ◆ **Campbell, J. F. & Mandigo, R. W. (1978).** Effects of portion thickness and cooking temperature on the dimensional properties and composition of restructured pork. *Journal of Food Science*, 48: 1731-1734.
 - ◆ **Carbajal, A. & Ortega, R. (2001).** La dieta mediterránea como modelo de dieta prudente y saludable. *Revista Chilena de Nutrición*, 28: 224-236.
 - ◆ **Carbajal, A. (2002).** La nutrición en la red. <http://www.ucm.es/info/nutri1/carbajal/manual>. Acceso: 24/04/2005.
 - ◆ **Carbajal, A. (2003).** Consumo de carne y tendencias. Calidad de vida y epidemiología de enfermedades asociadas. In Jiménez Colmenero, F. Sánchez- Muniz, F. & Olmedilla Alonso, B. (Eds.). *La carne y productos cárnicos como alimentos funcionales*. Pp. 17-38. Madrid. Fundación Española de la Nutrición y Editec@red.

-
- ◆ **Carbajal, A. (2005).** Evolución del consumo de carnes y derivados. Factores que condicionan su ingesta y papel nutricional en la dieta española. In Jiménez Colmenero, F.; Sánchez-Muniz, F. & Olmedilla, B. (Eds.). Derivados cárnicos funcionales: estrategias y perspectivas. Pp. 21-31. Madrid. Fundación Española de la Nutrición y Editec@red.
 - ◆ **Carbajal, A.; Pérez Llamas, F.; Zamora Navarro, S. & Sánchez muniz, F. J. (2005).** Alimentación y salud. Conceptos actuales de dieta prudente. La alimentación en el adulto. Sociedad Española de Nutrición. In press.
 - ◆ **Carballo, J.; Ayo, J. & Jiménez Colmenero, F. (2005).** Microbial transglutaminase and caseinate systems as a cold set binders: Influence of meat species and chilling storage. Food Science and Technology. On line.
 - ◆ **Carr, A. & Frei, B. (2000).** The role of natural antioxidants in preserving the biological activity of endothelium-derived nitric oxide. Free Radical Biology and Medicine, 28 (12), 1806-1814.
 - ◆ **Cassens, R. G. (1999).** Contribution of meat to human health. In: Proceeding 45th International Congress of Meat Science and Technology. Vol. II, pp. 642-648. Yokohama. Japón.
 - ◆ **CESNID (2004).** Tabla de Composición de Alimentos del CESNID. McGraw-Hill/Interamerican. Barcelona. España.
 - ◆ **Chae, S. H.; Keeton, J. T. & Smith, S. B. (2004).** Conjugated linoleic acid reduces lipid oxidation in aerobically stored, cooked ground beef patties. Journal of Food Science, 69 (8): 306-309.
 - ◆ **Chan, W. (2004).** Human nutrition. In Encyclopedia of Meat Science. Jensen, W. K.; Davine, C. & Dikeman, M. (Eds.). Vol I. pp. 614-623. London, UK: Elsevier Science Ltd.
 - ◆ **Channon, H. A. & Trout, G. R. (2002).** Effect of tocopherol concentration on rancidity development during frozen storage of a cured and an uncured processed pork product. Meat Science, 62 (1): 9-17.
 - ◆ **Chen, C. M. & Trout, G. R. (1991).** Sensory, instrumental texture profile and cooking properties of restructured beef steaks made with various binders. Journal of Food Science, 56 (6): 1457-1460.
 - ◆ **Chen, M. T.; Chou, S. J. & Liu, D. C. (1998).** Effect of transglutaminase of chicken liver from different steps of purification on the physical properties of gel from chicken surimi. In Proceeding 44th International Congress of Meat Science and Technology. Pp. 528-529. Barcelona. España.
 - ◆ **Chesney, M. S.; Mandigo, R. W. & Campbell, J. F. (1978).** Journal of Food Science, 43:1535-1537.
 - ◆ **Chin, K. B.; Keeton, J. T.; Longnecker, M. T. & Lamkey, J. W. (1999).** Utilization of soy protein isolate and konjac bleds in a low-fat bologna (model system). Meat Science, 53: 45-57.
 - ◆ **Chin, K. B.; Keeton, J. T.; Miller, R.K.; Longnecker, M. T. & Lamkey, J. W. (2000).** Evaluation of konjac bleds and soy protein isolate as fat replacements in low-fat bologna. Journal of Food Science, 65 (5): 756-763.

-
- ◆ **Chisholm, A.; Mann, J.; Skeaff, M. Frampton, C. Sutherland, W.; Ducan, A. & Tiszavari, S. A. (1998).** A diet rich in walnuts favourably influences plasma fatty acid profile in moderately hyperlipidaemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52: 12-16.
 - ◆ **Chizzolini, R.; Zanardi, E.; Dorigoni, V. & Ghidini, S. (1999).** Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat products. *Trends Food Science and Technology*, 10: 119-128.
 - ◆ **Christen, S.; Woodall, A. A.; Shigenaga, M. K.; Sothwell-Keely, P. T.; Duncan, M. W. & Ames, B. N. (1997).** Gamma-Tocopherol traps mutagenic electrophiles such as NOx and complements alpha-tocopherol: Physiological implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94 (7): 3217-3222.
 - ◆ **Clarke, A. D. (1997).** Reducing cholesterol levels in meat, poultry and fish products. In Pearson, A. M. & Dutson, T. R. (Eds.). *Production and processing of healthy meat, poultry and fish products*. Pp 101-117. London: Blackie Academic & Professional.
 - ◆ **Cobiac, L. (2000).** Could red meat be a functional food of the future?. In *Marketing/Communication Workshop*, 6-7. International Meat Secretariat and hosted by The Meat and Livestock Commission, PO Box 44, Winterhill House, Winterhill, Milton Keynes MK6 1AX, UK.
 - ◆ **Consejo de la Unión Europea. (2006).** http://ue.eu.int/ueDocs/newsWord/es/Isa/_Toc106701110. Acceso: 10/01/2006.
 - ◆ **Cook, J. D. (1999).** Defining optimal body iron. *Proceeding of the Nutrition Society*, 58: 489-495.
 - ◆ **Coon, F. P.; Calkins, C. R. & Mandingo, R. W. (1983).** Pre- and post-rigor sectioned and formed beef steaks manufactured with different salt levels, mixing times and tempering times. *Journal of Food Science*, 48: 1731-1734.
 - ◆ **Cordray, J. C. & Huffman, D. L. (1984).** Restructuring of hot-processed meat. In *Proceedings Reciprocal Meat Conference*. Vol 36, pp. 74-81. American Meat Science Association Fargo, USA.
 - ◆ **Cross, H. R.; Berry, B. W. & Wells, L. H. (1980).** Effects of fat level and source on the chemical, sensory and cooking properties of ground beef patties. *Journal of Food Science*, 45: 791-793.
 - ◆ **De Luca, H. F. & Zierold, C. (1998).** Mechanisms and functions of vitamin D. *Nutrition Reviews*, 56 (2): S4-S10.
 - ◆ **Decker, E. A. & Mei, L. (1996).** Antioxidant mechanisms and applications in muscle foods. *Reciprocal Meat Conference Proceedings*, 49: 64-72.
 - ◆ **Decker, E. A. & Xu, Z. (1998).** Minimizing rancidity in muscle food. *Food Technology*, 52 (10): 54-59.
 - ◆ **Decker, E. A.; Faustman, C. & Lopez-Bote, C. J. (2000).** Antioxidants in muscle foods: nutritional strategies to improve quality. 499 pp. Wiley, J. & Sons. Inc. New York.

-
- ◆ **Demos, B. P. & Mandingo, R. W. (1996).** Color of fresh, frozen and cooked ground beef patties manufactured with mechanically recovered neck bone lean. *Meat Science*, 42 (4): 415-429.
 - ◆ **Devatkal, S. & Mendiratta, S. K. (2001).** Use of calcium lactate with salt-phosphate and alginate-calcium gels in restructured pork rolls. *Meat Science*, 58 (4): 371-379.
 - ◆ **Diehl, J. F. (2002).** The stage is set for nutrition message in Europe. International Tree nut Council (INC). http://inc.treenuts.org/ar01_02.html. Acceso: 17/12/2002.
 - ◆ **Diplock, A. T.; Agget, P. J.; Ashwell, M.; Bornet, F.; Fern, E. B. & Roberfroid, M. B. (1999).** Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus Document. *British Journal of Nutrition*, 81 (suppl. 1): S6.
 - ◆ **Drewnowski, A. & Popkin, B. M. (1997).** The nutrition transition: new trends in the global diet. *Nutrition Reviews*, 55: 31-43.
 - ◆ **Edwards, R. A.; Dainty, R. H.; Hibard, C. M. & Ramantanis, S. V. (1987).** Amines in fresh beef of normal pH and the role of bacteria in changes in concentration observed during storage in vacuum packs at chill temperature. *Journal of Applied Bacteriology*, 63: 427-434.
 - ◆ **Egbert, W. R.; Huffman, D. L.; Chen, C. M. & Jones, W. R. (1992).** Microbial and oxidative changes in low-fat ground beef during simulated retail distribution, *Journal of Food Science*, 57: 1269-1293.
 - ◆ **Elvira, S. (2002).** Aditivos alimentarios. Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos In Macías & Macías (Eds.). Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos. Vol. 1, pp. 689-714. Plasencia. Cáceres. España.
 - ◆ **Enser, M. (2000).** Producing meat for healthy eating. In Proceeding 46th International Congress of Meat Science and Technology. Vol. I, pp. 124-129. Argentina: Buenos Aires.
 - ◆ **Esguerra, C. M. (1994).** Quality of cold-set restructured beef steak: effects of various binders, marination and frozen storage. Meat Industry Research Institute of New Zealand. Publication MIRINZ 945.
 - ◆ **Estrategia NAOS. (2005).** Estrategia para la nutrición, actividad física y prevención de la obesidad. Ministerio de Sanidad y Consumo. España. <http://www.aesa.msc.es/aesa/web/AesaPageServer?idpage=9&idcontent=5672>. Acceso: 24/04/2005.
 - ◆ **Eynard, A. R. & López, C. B. (2003).** Conjugated linoleic acid (CLA) versus saturated fats/cholesterol. Their proportion in fatty and lean meats may affect the risk of developing colon cancer. *Lipids Health Disease*, 2: 6-10.
 - ◆ **Falcó, G.; Bocio, A.; Llobet, J. M. & Domingo, J. L. (2005).** Health risk of dietary intake of environmental pollutants by elite sportmen and sportwomen. *Food and Chemical Toxicology*, 43 (12): 1713-1721.
 - ◆ **Farouk, M. H.; Hall, W. K. & Swan, J. E. (2000).** Attributes of beef sausages, batters, patties and restructured roasts from two boning systems. *Journal of Muscle Foods*, 11 (3): 197-212.
 - ◆ **Farr, D. R. (1997).** Functional foods. *Cancer Letters*, 114: 59-63.

-
- ◆ **Favier, J. C.; Ripert, J. L.; Toque, C. & Feinberg M. (1995).** Répertoire general des aliments. Tabla de composition. Paris: Technique & Documentation / Inra / Ciqual-Regal.
 - ◆ **Feldman, E. B. (2002).** The scientific evidence for a beneficial health relationship between walnuts and coronary heart disease. *Journal of Nutrition*, 132: 1062S-1101S.
 - ◆ **Feng, J.; Xiong, Y. L. & Mikel, W. B. (2003).** Textural properties of pork frankfurters containing thermally/enzymatically modified soy proteins. *Journal of Food Science*, 68(1): 1220-1224.
 - ◆ **Fernández Ginés, J. M.; Fernández-López, J.; Sayas-Barberá, E.; Sendra, E.; Pérez-Álvarez, J. A. (2004).** Lemon albedo as a new source of dietary fiber: application to bologna sausages. *Meat Science*, 67: 7-13.
 - ◆ **Fernández-López, J.; Fernández-Ginés, J. M.; Alerón-Carbonell, L.; Sayas-Barberá, E.; Sendra, E. & Pérez-Álvarez, J. A. (2004).** Application of functional citrus by-products to meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 176-185.
 - ◆ **Fernández-Martín, F.; Fernández, P.; Carballo, J. & Jiménez Colmenero, F. (1997).** Pressured-heat combinations on pork meat batters: Protein thermal behaviour and product rheological properties. *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, 45 (11): 4440-4445.
 - ◆ **Ferro-Luzzi, A. & Martino, L. (1996).** Obesity and physical activity. *Ciba Foundation Symposium*, 201: 207-221.
 - ◆ **Field, R. A.; Williams, J. C.; Prasad, V. S.; Cross, H. R.; Secrit, J. L. & Brewer, M. S. (1984).** An objective measurement for evaluation of bind in restructured lamb roasts. *Journal of Texture Studies*, 15 (2): 173-178.
 - ◆ **Flores, H. A.; Kastner, C. L.; Kropf, D. H. & Hunt, M. C. (1986).** Effects of blade tenderization and trimming of connective tissue on hot-boned restructured, pre-cooked roast from cows. *Journal of Food Science*, 51: 1176-1179.
 - ◆ **Food and Drug Administration, EEUU (FDA) (2004).** <http://www.fda.gov/bbs/topics/news/2004/NEW01044.html>. Acceso: 24/04/2004.
 - ◆ **Forman, D. (1999).** Meat and cancer: a relation in search of a mechanism. *Lancet*, 353 (9154): 686-687.
 - ◆ **Fortin, A.; Robertson, W. M. & Tong, A. K. W. (2005).** The eating quality of Canadian pork and its relationship with intramuscular fat. *Meat Science*, 69: 297-305.
 - ◆ **Fraser, D. R. (1995).** Vitamin D. *Lancet*, 345: 104-107.
 - ◆ **Forrest, J. C.; Aberle, E. D.; Hedrick, H. B.; Judge, M. D. & Merkel, R. A. (1975).** *Principles of Meat Science*. W. H. Freeman & Company. San Francisco. USA.
 - ◆ **Fraser, G. E. (1999).** Nut consumption, lipids and risk of a coronary event. *Clinical Cardiology*, 22 (Supp III): III-1-15.
 - ◆ **Gao, R.; William, I. S.; Huang, T.; Papas, M. A. & Qui, M. (2002).** The uptake of tocopherols by RAW 264.7 macrophages. *Nutrition Journal*, 1 (2): 1-9.
 - ◆ **García, C. & Carraspio, A. I. (2002).** Control de calidad de los productos cárnicos. Parámetros de calidad. Métodos de análisis. Laboratorios de Control. In Macías & Macías

- (Eds.). Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos. Vol. 2., pp. 1588-1599. Plasencia. Cáceres. España.
- ◆ **García, M. L.; Domínguez, R.; Galvez, M. D.; Casa, C. & Selgas, M. D. (2002).** Utilization of cereal and fruit fibres in low fat dry fermented sausages. *Meat Science*, 60: 227-236.
 - ◆ **Gäspérin, L.; Čepin, S. & Žlender, B. (2002).** The Role of Meat Products as Functional Food. *Tehnolojia mesa*, 43 (3-6):186-199.
 - ◆ **Gibney, M. J. (1993).** Fat in animal products: facts and perceptions. In J. D. Wood and T. L. J. Lawrence. (Eds.). *Safety and Quality of Food from animals*. British Society of Animal Production Occasional Publication, 17. pp. 57-61.
 - ◆ **Gimeno, O.; Astiasarán, I. & Bello, J. (2001).** Calcium ascorbate as a potential partial substitute for NaCl in dry fermented sausages: effect on color, texture and hygienic quality at different concentrations. *Meat Science*, 57: 23-29.
 - ◆ **Girard, J. P. (1984).** *Bull. Technology. C. R. Z. V.*, 56: 59.
 - ◆ **Gnanasambandam, R. & Zayas, J. F. (1992).** Functionality of wheat germ protein in comminuted meat products as compared with corn germ and soy proteins. *Journal of Food Science*, 57: 829-833.
 - ◆ **Goldberg, I. (1994).** Introduction. In Chapman and Hall. (Eds.). *Functional foods. Designer foods, pharmafoods, nutraceuticals*. Pp. 3-16. London.
 - ◆ **González, C. A.; Agudo, A.; Argilaga, S.; Amiano, E.; Ardanaz, A.; Barricarte, N.; Larrañaga, M. D.; Chilarque, M.; Dorronsoro, C.; Martínez, C.; Navarro, J. R.; Quirós, M.; Rodríguez, M. J. & Tormo, M. J. (2001).** Estudio prospectivo europeo sobre dieta, cáncer y salud (EPIC) y la investigación sobre dieta y cáncer en Europa. *Anales del sistema sanitario de Navarra*, 24 (1): 75-82.
 - ◆ **Gray, I.; Reddy, S. K.; Price, J. F.; Mandegere, A. & Wilkens, W. F. (1982).** Inhibition of N-nitrosamines in bacon. *Food Technology*, 36: 39-45.
 - ◆ **Grigelmo-Miguel, N.; Abadía-Serós, M. I. & Martín-Belloso, O. A. (1999).** Characterisation of low-fat high dietary fiber frankfurters. *Meat Science*, 52: 247-256.
 - ◆ **Hallberg, L.; Brune, M. & Rossander, L. (1989).** Iron absorption in man ascorbic acid and dose dependent inhibition by phytate. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 49: 140-144.
 - ◆ **Halsted, C. H. (2003).** Dietary supplementats and functional foods: 2 sides of a coin?. *American Journal of Nutrition*, 77: 1001-1007.
 - ◆ **Halvorsen, B. L.; Carlsen, H.; Myhrstad, M. C.; Nordström, O.; Sakhi, A. K.; Holte, K.; Hvattum, E.; Haffner, K.; Moskaug, J. O. & Blomhoff, R. (2002).** Total antioxidant activity in dietary plants in Norway. *Journal of Nutrition*, 132 (3): 461-471.
 - ◆ **Hammond, J. (1955).** *Journal of Yorkshire Agriculture Society*, 1.
 - ◆ **Hand, L. W.; Crenwelge, C. H. & Terrell, R. N. (1981).** Effects of wheat gluten, soy isolate and flavoring on properties of restructured beef steaks. *Journal of Food Science*, 46: 1004-1006.

-
- ◆ **Harris, C. M. (1998).** Functional foods: Their role in disease prevention and health promotion. *Food Technology*, 52: 63-70.
 - ◆ **Hasler, C. M. (1996).** Functionals foods: The Western Perspective. *Nutrition Review*, 54: 11(II) S6-S10.
 - ◆ **Hasler, C. M. (1998).** Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. *Food Technology*, 52 (11): 63-70.
 - ◆ **Hasler, C. M. (2003).** Alimentos funcionales. Conocimientos actuales sobre nutrición. Octava edición., 592 (Capítulo 64): 808-816.
 - ◆ **Hayward, L. H.; Hunt, M. C.; Kastner, C. L. & Kropf, D. H. (1980).** Blade tenderization effects on beef longissimus sensory and instron textural measurements. *Journal of food Science*, 45: 925-930.
 - ◆ **Hernández-Jover, T.; Izquierdo-Pulido, M.; Veciana-Nogues, M. T. & Vidal-Carou, M. C. (1996).** Ion-pair high performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in meat and meat products. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44: 2710-2715.
 - ◆ **Higgs, J. D. (2000).** The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science and Technology*, 11(3), 85-95.
 - ◆ **Higgs, J. D. & Mulvihill, B. (2002).** The nutritional quality of meat. *Meat processing. Improving quality.* Kerry, J.; Kerry, J. & Ledward, D. (Eds.). Pp. 65-104. Woodhead Publishing Limited. England.
 - ◆ **Confederación Española de Cooperativas de Consumidores y Usuarios (HISPACOOP). (2005).** <http://www.hipacoop.es>. Acceso 20/04/2005.
 - ◆ **Hofmann, K. (1990).** Definition and measurement of meat quality. In *Proceedings 36th International Congress of Meat Science and Technology*. Vol III: 941-954.
 - ◆ **Honda, K.; Suzuki, M; Numata, M.; Nakamura, T.; Futamura, Y.; Kanamura, Y. & Nagaoka, S. (1999).** Effect of dietary protein hidrolizate in livestock products on the plasma and liver lipid components in rats. *Proceedings in 45th International Congress of Meat Science and Technology*, 2: 698-699.
 - ◆ **Hotchkiss, J. H. & Parker. R. S. (1990).** Toxic compounds produced during cooking and meat processing. In *Meat and Health, Advances in Meat Research.* A. M. Pearson & T. R. Dutson (Eds.). Vol. 6, pp. 105-134. Elsevier Applied Science. Londres.
 - ◆ **Houben, J. H.; van Dijk, A.; Eikelenboom, G. & Hoving-Bolink, A. V. (2000).** Effect of dietary vitamin E supplementation, fat level and packaging on colour stability and lipid oxidation in minced meat. *Meat Science*, 55 (3): 331-336.
 - ◆ **Hoz, L.; D'Arrigo, M.; Cambero, I. & Ordóñez, J. A. (2004).** Development of an n-3 fatty acid and α -tocopherol enriched dry fermented sausage. *Meat Science*, 67: 485-495.
 - ◆ **Huffman, D. L. & Cordray, J. C. (1982).** Processing systems. Particle reduction systems (grinding, flaking, chuking, slicing). In *Meat Science and Technology. Iternational Syposium.* Proccdings. Franklin, R.K. & Cross, H. R. (Eds.). Lincoln, Nebraska.

-
- ◆ **Huffman, D. L.; Ande, C. F.; Cordray, J. C; Stanley, M. H. & Egbert, W. R. (1987).** Influences of polyphosphate on storage satability of restructured beef and pork nuggets. *Journal of Food Science*, 52: 275-278.
 - ◆ **Hunt, M. C. & Kropf, D. H. (1987).** Color and appearance. In Pearson, A. M., Dutson, R. T. (Eds.). *Restructured meat and poultry products, advance in meat research*, vol. 3, pp 125-159. Van Nostrand. New York.
 - ◆ **Hunt, J. R.; Gallagher, S. K; Johnson, L. K. & Lykken, G. I. (1995).** Hihg- versus low-meat diets: effects on zinc absortion, iron status, and calcium, copper, iron, magnesium, manganese, nitrogen, phosphorus and zinc balance in postmenopausal women. *American of Clinical Nutrition*, 62: 621-632.
 - ◆ **Hur, S. J.; Ye, B. W.; Lee, J. L.; Ha, Y. L.; Park, G.B. & Joo, S. T. (2004).** Effect of conjugated linoleic acid on color and lipid oxidation of beef patties during storage. *Meat Science*, 66: 771-775.
 - ◆ **Hutt, P. B. (2000).** U. S. government regulation of food with claims for special physiological value. In Schmidl, M.K.; Labuza, T. P. (Eds). *Essentials of functional foods*. Pp. 339-362. Gaithersburg, M. D. Aspen Publishers.
 - ◆ **Ikeda, I. & Sugano, M. (1998).** Inhibition of colesterol absorption by plant sterols for mass intervention. *Current Opinion in Lipidology*, 9: 527-531.
 - ◆ **International Life Science Institute (ILSI Europe). (2005).** <http://europe.ilsa.org>. Acceso: 10/05/2005.
 - ◆ **IOM. (2000).** Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. National Academy Press, Washington DC, USA.
 - ◆ **IOM. (2001).** Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. Nat. Acad. Press, Washington DC. USA. *National Academy of Sciences*. <http://www.iom.edu/subpage.asp>. Acceso: 7/11/2005.
 - ◆ **Iwamoto, M.; Sato, M.; Kono, M.; Hirooka, Y.; Sakai, K.; Takeshita, A. & Imaizumi, K. (2000).** Walnuts lower serum cholesterol in Japanese men and women in Japan. *Journal of Nutrition*, 130: 171-176.
 - ◆ **Jacobs, D. J., & Sebranek, J. G. (1980).** Use the prerigor beef for frozen ground beef patties. *Journal of Food Science*, 45: 648.
 - ◆ **Jenkins, D. J. A.; Kendall, C. W. C.; Axelsen, M.; Augustin, L. S. A & Vuksan, V. (2000).** Viscous and nonviscous fiber, nonabsorbable and low glycaemic index carbohydrates, blood lipids and coronary heart disease. *Current Opinion in Lipidology*, 11: 49-56.
 - ◆ **Jiang, Q.; Cristen, S.; Shigenaga, M. K. & Ames, B. N. (2001).** γ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74 (6): 714-722.
 - ◆ **Jiménez Colmenero, F., Carballo, J., & Solas M. T. (1995).** The effect of use of freeze-thawed pork on properties of bologna sausage with two fat levels. *International Journal of Food Science and Technology*, 30, 335-346.
-

-
- ◆ **Jiménez Colmenero, F. (1996).** Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 7 (2).
 - ◆ **Jiménez Colmenero, F.; Carballo, J. & Cofrades, S. (2001).** Healthier meat and meat products: Their role as functional foods. *Meat Science*, 59: 5-13.
 - ◆ **Jiménez Colmenero, F.; Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Cofrades, S. y Carballo, J. (2003).** Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts. *Meat Science* 65; 1391-1397.
 - ◆ **Jiménez Colmenero, F. (2004).** Non-Meat Proteins. In *Encyclopedia of Meat Sciences*. Jensen, W.; Devine, C. & Dikemann, M. (Eds.). Vol. I, pp. 492-499. London, UK: Elsevier Science Ltd.
 - ◆ **Jiménez Colmenero, F. (2005).** Estrategias tecnológicas de optimización de componentes para el desarrollo de productos cárnicos funcionales. In *Derivados Cárnicos funcionales: estrategias y perspectivas*. Sánchez-Muniz, F.; Jiménez Colmenero, F. & Olmedilla Alonso, B. (Eds.). FEN. Madrid.
 - ◆ **Jiménez Colmenero, F.; Ayo, M. J. & Carballo, J. (2005).** Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut: effect of transglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers. *Meat Science*, 69 (4): 781-788.
 - ◆ **Jiménez Colmenero, F. (2006).** Meat based functional foods. In Hui, Y. H. (Eds.). *Handbok of Food Products Manufacturing*. John Wiley. In press.
 - ◆ **Johnson, J. M. & Walker, P. M. (1992).** Zinc and iron utilization in young women consuming a beef-based diet. *Journal of American Dietetic Association*, 12: 1474-1478.
 - ◆ **Joo, S. T.; Lee, J. I.; Hah, K. H.; Ha, Y. L. & Park, G. B. (2000).** Effect of conjugated linoleic acid additives on quality characteristics of pork patties. *Journal of Food Science and Technology*, 32: 62-68.
 - ◆ **Karanja, N.; Likimani, T. A. & McCarron, D. A. (1990).** Calcium, phosphorus, sodium and potassium. *Meat and Health Advance in Meat Research*. Pearson, A. M. & Dutso, T. R. (Eds.). Vol. 6, pp. 301-328. Elsevier Applied Science. Londres.
 - ◆ **Kelly, F. D.; Mann, N. J.; Turner, A. H. & Sinclair, A. J. (1999).** Stearic acid-rich diets do not increase thrombotic risk factors in healthy meals. *Lipids*, 34: S199.
 - ◆ **Kelly, F. D.; Sinclair, A. J.; Mann, N. J.; Turner, A. H.; Abedin, L. & Li, D. (2001).** A stearic acid-rich diet improves thrombogenic and atherogenic risk factor profiles in healthy males. *European Journal of Clinical Nutrition*, 55: 88-96.
 - ◆ **Khalil, A. H. (2000).** Quality characteristics of low-fat beef patties formulated with modified corn starch and water. *Food Chemistry*, 68: 61-68.
 - ◆ **Kilic, B. (2003).** Effect of microbial transglutaminase and sodium caseinate on quality of chicken döner kebab. *Meat Science*, 63 (3): 417-421.
 - ◆ **Kim, J. S.; Godber, J. S. & Prinaywiwatkul, W. (2000).** Restructured beef roast containing oil and fiber influences cholesterol oxidation and nutritional profile. *Journal of Muscle Food*, 11: 111-127.

-
- ◆ **Knorr, D. (1998).** Technology aspects related to microorganisms in functional foods. *Trends in Food Science and Technology*, 9: 295-306.
 - ◆ **Kontush, A.; Spranger, T.; Reich, A.; Baum, K. & Beisiegel, U. (1999).** Lipophilic antioxidants in blood plasma as markers of atherosclerosis: The role of α -carotene and γ -tocopherol. *Atherosclerosis*, 144: 117-122.
 - ◆ **Krauss, R. M.; Eckel, R. H. & Howard, B. (2000).** AHA Dietary guidelines. Revisión 2000: a statement for Healthcare professionals from the nutrition committee of the American Heart Association. *Circulation*, 102: 2296-2311.
 - ◆ **Kris-Etherton, P. M.; Zhao, G.; Biskoski, A. E.; Stacie, M.; Coval, B. S. & Etherton, T. D. (2001).** Effects of nuts on coronary heart disease risk. *Nutrition Reviews*, 59: 103-111.
 - ◆ **Kristenson, M.; Zieden, B.; Kucinskiene, Z.; Elinder, L. S.; Bergdahl, B.; Elwing, B.; Abaravicius, A.; Razinkoviene, L.; Calkauskas, H. & Olsson, A. G. (1997).** Antioxidant state and mortality from coronary heart diseases in Lithuanian and Swedish men. Concomitant cross sectional study on men aged 50. *British Medical Journal*, 314: 629-633.
 - ◆ **Kuraishi, C.; Sakamaoto, J. & Soeda, T. (1996).** The usefulness of transglutaminase for processing. In G. R. Takeoka, R. Teranishi, P. J. Williams & A. Kobayashi (Eds.). *Biothechnology for improved food and flavours*. Pp. 29-38. Washington DC: ACS (ACS Symposium Series 637).
 - ◆ **Kuraishi, C.; Sakamoto, J.; Yamazaki, K.; Susa, Y.; Kuhara, C. & Soeda, T. (1997).** Production of restructured meat using microbial transglutaminase without salt or cooking. *Journal of Food Science*, 62: 488-490, 515.
 - ◆ **Lamkey, J. W.; Mandingo, R. W. & Calkins, C. R. (1986).** Effect of salt and phosphate on the texture and color stability of restructured beef steaks. *Journal of Food Science*, 51: 873-875.
 - ◆ **Lanari M. C.; Cassens R. G.; Schaefer D. M., & Scheller K. K. (1994).** Effect of dietary vitamin E on pigment and lipid stability of frozen beef: a kinetic analysis. *Meat Science*, 38 (1): 3-15.
 - ◆ **Lavedrine, F.; Zmirou, D.; Ravel, A.; Balducci, F. & Alary, J. (1999).** Blood cholesterol and walnut consumption: a cross-sectional survey in France. *Preventive Medicine*, 28: 33-9.
 - ◆ **Lee, B. J.; Hendricks, D. G. & Cornforth, D. P. (1998).** Effect of sodium phytate, sodium pyrophosphate and sodium tripoliphosphate on physico-chemical characteristics of restructured beef. *Meat Science*, 50: 273-283.
 - ◆ **Lee, S.; Faustman, C.; Djordjevic, D.; Faraji, H. & Decker, E. A. (2006).** Effect of antioxidants on stabilization of meat products fortified with *n*-3 fatty acids. *Meat Science*, 72 (1): 18-24.
 - ◆ **León, M. T. & Castillo, M. D. (2002).** La dieta mediterránea está de moda. *Medicina General*, 49: 902-908.
 - ◆ **López-Caballero, M. E.; Carballo, J. & Jiménez Colmenero, F. (1999).** Microbiological changes in pressurized, prepackaged sliced cooked ham. *Journal of Food Protection*, 62 (12): 1411-1415.

- ◆ **Lureña-Martínez, M. A.; Vivar-Quintana, A. M. & Revilla, I. (2004).** Effect of locust bean/xanthan gum addition and replacement of pork fat with olive oil on the quality characteristics of low-fat frankfurters. *Meat Science*, 68: 383-389.
- ◆ **Lynch, A.; Ferry, J. P.; O'Sullivan, M. G.; Lawlor, J. B. P.; Buckley, D. J. & Morrissey, P. A. (2000).** Distribution of alpha-tocopherol in beef muscles following dietary alpha-tocopherol acetate supplementation. *Meat Science*, 56 (2): 211-214.
- ◆ **Mandingo, R. W. (1974).** Restructured meat products. *Proceedings 27th Recip. Meat Conference*, 27.
- ◆ **Mandigo, R. W. (1988).** Restructured meats. In In "Developments in Meat Science-4. Lawrie, R. (Ed.). Pp 297-315. Elsevier, New York.
- ◆ **MAPA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). (2005).** Dirección General de Alimentación. Panel de Consumo Alimentario. La alimentación en España. <http://www.mapa.es>. Acceso 12/05/2005.
- ◆ **Marquez, E. J.; Ahmed, E. M.; West, R. L. & Johnson, D. D. (1989).** Emulsion stability and sensory quality of beef frankfurters produced at different fat and penaut oil levels. *Journal of Food Science*, 54: 867-870, 873.
- ◆ **Marriott, N. G.; Phelps, S. K; Costello, C. & Graham, P. P. (1986).** Restructured steaks manufactured from pre-rigor beef varying particle size. *Journal of Food Quality*, 9: 319-330.
- ◆ **Martín, L. (2002).** Composición química de la carne. Métodos de análisis. In *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos*. Martín & Macías. (Eds.). Vol 1. Capítulo, 15. pp 313-328.
- ◆ **Martínez-González, M. A.; Fernández-Jarne, E.; Serrano-Martínez, M. Martí, A. & Martín-Moreno, J. M. (2002).** Mediterranean diet and reduction in the risk of a first acute myocardial infarction: an operational healthy dietary score. *European Journal of Nutrition*, 41: 153-160.
- ◆ **Masson, F.; Talon, R. & Montel, M. C. (1996).** Histamine and tyramine production by bacteria from meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 32: 199-207.
- ◆ **Mataix, J.; Mañas, M.; Llopis, J. & Martínez de Victoria, E. (1994).** Tabla de composición de alimentos españoles. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Mataix, J. (Ed.). Universidad de Granada.
- ◆ **Mattson, F. H. & Grundy, S. M. (1985).** Comparison of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *Journal of Lipid Research*. 26: 194-197.
- ◆ **Mazza, G. (2000).** Alimentos funcionales. Aspectos bioquímicos y de procesado. Ed. Acribia. Zaragoza.
- ◆ **McKenna, M. J.; Morton, J.; Selig, S. E. & Snow, R. J. (1999).** Creatine supplementation increases muscle total creatine but not maximal intermittent exercise performance. *Journal of Applied Physiology*, 87: 2244-2252.
- ◆ **McKinley, M. C.; McNulty, H.; McPartlin, J.; Strain, J. J.; Pentieva, K.; Ward, M.; Weir, D. G. & Scott, J. M. (2001).** Low dose vitamin B₆ effectively lowers fasting plasma

homocysteine in healthy elderly person who are folate and riboflavin replete. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 750-764.

- ◆ **McMillin, K. W.; Bidner, T. D.; Felchle, S. E.; Dugas, S. M. & Koh, K. C. (1991).** Flavor and oxidative stability of ground beef patties as affected by source and storage. *Journal of Food Science*, 56 (4): 899-902.
- ◆ **Mendoza, E.; García, M. L.; Casas, C. & Selgas, M. D. (2001).** Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat Science*, 57: 387-393.
- ◆ **Miles, R. S.; McKeith, F. K.; Bechtel, P. J. & Novakofki, J. (1986).** Effect of processing, packaging and various antioxidants on lipid oxidation of restructured pork. *Journal of Food Protection*, 49 (3): 22-225.
- ◆ **Millar, M. F.; Davis, G. W.; Seideman, S. C.; Wheeler, T. L. & Ramsey, C. B. (1986).** Extending beef bullock restructured steaks with soy protein, wheat gluten or mechanically separated beef. *Journal of Food Science*, 51: 1169-1172.
- ◆ **Miller, A. J.; Ackerman, S. A. & Palumbo, S. A. (1980).** Effects of frozen storage on functionality of food processing. *Journal of Food Science*, 45: 1466-1471.
- ◆ **Mills, E. (2004).** Additives. In *Encyclopedia of Meat Sciences*. Jensen, W.; Devine, C. & Dikemann, M. (Eds.). Vol. I, 1-11. London, UK: Elsevier Science Ltd.
- ◆ **Modi, V. K.; Mahendrakar, N. S.; Narasimha Rao, D. & Sachindra, N. M. (2003).** Quality of buffalo meat burger containing legume flours as binders. *Meat Science*, 66: 143-149.
- ◆ **Moreiras, O.; Carbajal, A.; Cabrera, L. & Cuadrado, C. (2003).** Tablas de composición de alimentos. (7^o Ed). Ediciones Pirámide. Madrid. España.
- ◆ **Morin, L. A.; Temelli, F. & McMullen, L. (2004).** Interactions between meat proteins and barley (*Hordeum* ssp.) β -glucan within a reduced fat breakfast sausage system. *Meat Science*, 68: 419-430.
- ◆ **Mounsdon, R. K. & Jolley, P. D. (1987).** The changing shape of burgers. *British Journal of Photography*, 414, 415, 433.
- ◆ **Muguerza, E.; Gimeno, O.; Ansorena, D.; Bloukas, J. G. & Astiasarán, I. (2001).** Effect of replacing pork backfat with pre-emulsified olive oil on lipid fraction and sensory quality of Chorizo de Pamplona a traditional Spanish fermented sausage. *Meat Science*, 59: 251-258.
- ◆ **Muguerza, E.; Fista, G.; Ansorena, D.; Astiasarán, I. & Bloukas, J. G. (2002).** Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61: 397-404.
- ◆ **Muguerza, E.; Ansorena, D.; Bloukas, J. G. & Astiasarán, I. (2003a).** Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on the lipid oxidation and volatile compounds of greek dry fermented sausages. *Journal of Food Science*, 68 (4): 1531-1536.
- ◆ **Muguerza, E.; Ansorena, D. & Astiasarán, I. (2003b).** Improvement of nutritional properties of Chorizo de Pamplona by replacement of pork backfat with soy oil. *Meat Science*, 65: 1361-1367.

-
- ◆ **Mulvihill, B. (2004).** Micronutrients in meat. In Encyclopedia of Meat Sciences. Jensen, W.; Devine, C. & Dikemann, M. (Eds.). Vol. II. pp. 618-623. London, UK: Elsevier Science Ltd.
 - ◆ **Murray, C. J. L. & López, A. D. (1996).** The Global Burden of Disease. Boston, Mass: Harvard School of Public Health.
 - ◆ **Neumann, C.; Harris, D. M. & Rogers, L. M. (2002).** Contribution of animal source foods in improving and function in children in the developing world. Nutrition Research, 22 (1-2): 193-220.
 - ◆ **Nielsen, G. R.; Petersen, B. R. & Moller, A. J. (1995).** Impact of salt, phosphate and temperature on the effect of transglutaminase (FXIIIa) on the texture of restructured meat. Meat Science, 41 (3): 293-299.
 - ◆ **Nielsen, H. T.; Hoegh, L. & Moller, A. J. (1996).** Effect of kappa-carrageenan/locust bean gum mixture on bind and cooking loss in high mannuronate alginate restructured beef. Journal of Muscle Foods, 7: 413-424.
 - ◆ **Noble, B. J.; Seideman, S. C.; Quenzer, N. M & Costello, W. J. (1985).** The effect of slice thickness and mixing time on the palatability and cooking characteristics of restructured beef steaks. Journal of Food Quality, 7: 201-208.
 - ◆ **Nonaka, M.; Tanaka, H.; Okiyama, A.; Motoki, M.; Ando, H.; Umeda, K. & Mansura, A. (1989).** Polymerization of several proteins by Ca independent transglutaminase derived from micro-organisms. Agriculture Biological Chemistry, 53: 2619-2623.
 - ◆ **O'Connell, M.; Kerry, J. P.; Fannin, S. & Gilroy, D. (2002).** Assessment of honey as functional ingredient in cooked meat pork. In: Proceedings 48th International Congress of Meat Science and Technology. Vol. II, pp. 1016-1017. Rome. Italy.
 - ◆ **Ohrvall, M.; Sundlof, G. & Vessby, B. (1996).** Gamma, but non alpha, tocopherol levels in serum are reduced in coronary heart disease patients. Journal of International Medicine, 239: 111-117.
 - ◆ **Okuyama, H. & Ikemoto, A. (1999).** Needs to modify the fatty acid composition of meats for human health. In Proceeding 45th International Congress of Meat Science and Technology. Pp. 638-640. Yokohama, Japon.
 - ◆ **O'Kennedy, B. (2000).** Use of novel dairy ingredients in processed meats. In End of the project report 1999: DPRC No. 15. Teagast, Dublin, Ireland: Dairy Products Research Centre.
 - ◆ **Olmedilla, B.; Granado, F.; Herrero, C. & Blanco, I. (2006).** Nutritional approach for designing meat-based functional food products with nuts. Critical Review of Food Science and Nutrition. In press.
 - ◆ **Organización Mundial de la Salud. (OMS). (2003).** Diet, Nutrition and Prevention of chronic diseases. WHO Technical report Series 916.
 - ◆ **Organización Mundial de la Salud. (OMS). (2004).** Draft Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health.
 - ◆ **Østerlie, M. & Lerfall, J. (2005).** Lycopene from tomato products added minced meat: Effect on storage quality and colour. Food Research International, 38: 925-929.

-
- ◆ **Ovensen, L.; Brot, C. & Jakobsen, J. (2003).** Food contents and biological activity of 25 hydroxyvitamin D: a vitamin D metabolite to be reckoned with?. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 47: 107-113.
 - ◆ **Overvad, K.; Diamant, B.; Holm, L.; Holmer, G.; Mortensen, S. A. & Stender, S. (1999).** Review: coenzyme Q₁₀ in health and disease. *European Journal of Clinical Nutrition*, 53: 764-770.
 - ◆ **Ovesen, L. (2004).** Cancer Health Concerns. Micronutrients in meat. In *Encyclopedia of Meat Sciences*. Jensen, W.; Devine, C. & Dikemann, M. (Eds.). Vol. II. pp. 628-640. London, UK: Elsevier Science Ltd.
 - ◆ **Palacios, S.; Sánchez Borrego, R. & Corteza, A. (2005).** The importance of preventive health care in post-menopausal women. *Maturitas*, 52 (1): 53-60.
 - ◆ **Paneras, E. D.; Bloukas, J. G. & Filis, D. G. (1998).** Production of low-fat frankfurters with vegetable oils following the dietary guidelines for fatty acids. *Journal of Muscle Foods* 9: 111-126.
 - ◆ **Pappa, I. C.; Bloukas, J. G. & Arvanitoyannis, I. S. (2000).** Optimization of salt, olive oil and pectine level for low-fat frankfurters produced by replacing pork backfat with olive oil. *Meat Science*, 56: 81-88.
 - ◆ **Pariza, M. W.; Park, Y. & Cook, M. E. (2000).** Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: evidence and speculation. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 223: 8-13.
 - ◆ **Park, J.; Rhee, K. S.; Keeton, J. T. & Rhee, K. C. (1989).** Properties of low-fat frankfurters containing monounsaturated and omega-3 polyunsaturated oils. *Journal of Food Science*, 54: 500-504.
 - ◆ **Pascal, G. (1996).** Functional foods in the European Union. *Nutrition Review*, 54: 11 (II): S29-S32.
 - ◆ **Pegg, R. B. & Shahidi, F. (1997).** Unraveling the chemical identity of meat pigment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37: 561-589.
 - ◆ **Pellett, P. L. & Young, V. R. (1990).** Role of meat as a source of protein and essential aminoacids in human protein nutrition. In *Advances in meat research*. A. M. Pearson & T. R. Dutson. (Eds.). Vol.6, pp. 329-370. London: Elsevier Applied Science.
 - ◆ **Penfield, M. P.; Costello, C. A.; McNeil, M. A. & Riemann, M. J. (1988).** Effects of fat level and cooking methods on physical and sensory characteristics of restructured beef steaks. *Journal of Food Quality*, 11 (5): 349-356.
 - ◆ **Pennington, J. A. T. (2002).** Food composition database for bioactive food components. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15: 419-434.
 - ◆ **Pepper, F. H & Schmidt, G. R. (1975).** Effect of blending, time, salt, phosphate and bot-boned beef during binding streanght and cook yield beef rolls. *Journal of Food Science*, 40: 227-231.
 - ◆ **Pérez-Llamas, F.; Zamora, S. & Mataix, J. (2001).** Alimentos funcionales. In *Tratado de Nutrición Práctica*. Ed. Tojo, R. Doyma, S. L. Madrid.

- ◆ **Persson, E.; Graziani, G.; Ferracane, R.; Fogliano, V. & Skog, K. (2003).** Influence of antioxidants in virgin olive oil on the formation of heterocyclic amines in fried beefburgers, 41: 1587-1597.
- ◆ **Pietrasik, Z. & Duda, Z. (2000).** Effect of fat content and soy protein/carrageenan mix on the quality characteristics of comminuted, scalded sausages. *Meat Science*, 56: 181-188.
- ◆ **Pietrasik, Z. & Li-Chan, E. C. Y. (2002).** Response surface methodology study of the effect of salt, microbial transglutaminase and heating temperature on pork batter gel properties. *Food Research International*, 35 (4): 387-396.
- ◆ **Pietrasik, Z. (2003).** Binding and textural properties of beef gels processed with κ -carrageenan, egg albumin and microbial transglutaminase. *Meat Science*, 63 (3): 317-324.
- ◆ **Pietrasik, Z. & Jarmoluk, A. (2003).** Effect of sodium caseinate and κ -carrageenan on binding and textural properties of pork muscle gels enhanced by microbial transglutaminase addition. *Food Research International*, 36 (3): 285-295.
- ◆ **Porcella, M. I.; Sánchez, G.; Vaudagna, S. R.; Zanelli, M. L.; Descalzo, A.M.; Meichtri, L. H.; Gallinger, M. M. & Lasta, J. A. (2001).** Soy protein isolate added to vacuum-packaged chorizos: effect on drip loss, quality characteristics and stability during refrigerated storage. *Meat Science*, 57: 437-443.
- ◆ **Pszczola, D. E. (1998).** Addressing functional problems in fortified foods. *Food Technology*, 52: 38-46.
- ◆ **Raes, K.; Balcaen, A. Dirinck, P.; De Winne, A.; Claeys, E.; Demeyer, D. & De Smet, S. (2003).** Meat quality, fatty acid composition and flavour analysis in Belgian retail beef. *Meat Science*, 65: 1237-1246.
- ◆ **Raes, K.; De Smet, S. & Demeyer, D. (2004a).** Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113: 199-221.
- ◆ **Raes, K.; Haak, L.; Balcaen, A.; Claeys, E.; Demeyer, D. & De Smet, S. (2004b).** Effect of linseed feeding at similar linoleic acid levels on the fatty acid composition of double-muscled Belgian Blue young bulls. *Meat Science*, 66(2): 307-315.
- ◆ **Raharjo, S.; Dexter, D. R.; Worfel, R. C.; Sofos, J.; Solomon, M. B.; Shults, G. W. & Schmitdt, G. R. (1995).** Quality characteristics of restructured beef steaks manufactured by various techniques. *Journal of Food Science*, 60 (1): 68-71.
- ◆ **Ravai, M. (1995).** California walnuts. The natural way to healthier heart. *Nutrition Today*, 30 (4): 173.
- ◆ **Reagan, J. O.; Liou, F. H.; Reynolds, A. E. & Carpenter, J. A. (1983).** *Journal of Food Science*, 48: 146-149, 162.
- ◆ **Real Decreto 494/1998**, de 27 de marzo, por el que se modifica el Real Decreto 145/1997, de 31 de enero, por el que se aprueba la lista positiva de aditivos distintos de colorantes y endulcorantes para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización.

-
- ◆ **Resurreccion A. V. A. (2003).** Sensory aspects of consumer choices for meat and meat products. *Meat Science*, 66: 11-20.
 - ◆ **Rocha-Garza, A. E. & Zayas, J. F. (1996).** Quality of boiled beef patties supplemented with wheat germ protein flour. *Journal of Food Science*, 61 (2): 418-421.
 - ◆ **Rolan, T. L.; Davis, G. W.; Seideman, S. C.; Wheelen, T. L. & Miller, M. L. (1988).** Effects of blade tenderization and proteolytic enzymes on restructured steaks from beef bullock chuks. *Journal of food Science*, 53 (1): 1062-1064.
 - ◆ **Romans, J. R.; Costello, W. J.; Carlson, C. W.; Greaser, M. L. & Jones, K. W. (1994).** *The meat we eat.* Danville, IL: Interstate Publisher, Inc.
 - ◆ **Ross, S. (2000).** Functional foods: the Food and Drug Administration perspective. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 1735S-1738S.
 - ◆ **Rui Jiang, M. D.; JoAnn, E.; Manson, M.D. ; Meir, J. ; Stampfer, M. D. ; Simin Liu, M. D. ; Walter, C. ; Willett, M. D. & Frank, B. Hu. (2002).** Nut and Peanut Butter Consumption and Risk of Type 2 Diabetes in Women. *The Journal of the American Medical Association*, 288 (20): 2554-2560.
 - ◆ **Ruiz-Capillas, C & Jiménez Colmenero, F. (2004).** Biogenic Amines in Meat and Meat Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 489-499.
 - ◆ **Ruiz-Carrascal, J. & Regenstein, J. (2002).** Emulsion stability and water uptake ability of chicken breast muscle proteins as affected by microbial transglutaminase. *Journal of Food Science*, 67 (2): 734-739.
 - ◆ **Ruiz-Rejón, F.; Martín-Peña, G.; Granado, F.; Ruiz- Galiana, J. & Olmedilla, B. (2002).** Plasma satatus of retinol, α - and γ -tocopherol and main carotenoids to first myocardial infarction: A case-contol and follow-up study. *Nutrition*, 18 (1): 26-31.
 - ◆ **Ruusunen, M.; Vainionpaa, J.; Poulanne, E.; Lyly, M.; Lähteenmäki, L.; Niemistö, M. & Ahvenainen, R. (2003a).** Physical and sensory propierties of low-salt phosphate-free frankfurters composed with various ingredients. *Meat Science*, 63: 9-16.
 - ◆ **Ruusunen, M.; Vainionpaa, J.; Poulanne, E.; Lyly, M.; Lähteenmäki, L.; Niemistö, M. & Ahvenainen, R. (2003b).** Effect of sodium citrate, carboxymethyl cellulose and carrageenan levels on quality characteristics of low-salt and low-fat bologna type sausages. *Meat Science*, 64: 371-381.
 - ◆ **Sabaté, J. (1993).** Does nut consumption protect against ischaemic heart disease? *European Journal of Clinical Nutrition*, 47 (1): S71-S75.
 - ◆ **Sabaté, J.; Fraser, G. E.; Burke, K.; Knutsen, S. F.; Bennet, H. & Lindstead, K. D. (1993).** Effects of walnuts on serum lipid levels and blood pressure in normal men. *New England Journal of Medicine*, 328 (9): 603-607.
 - ◆ **Sabaté, J. (1999).** Nut consumption, vegetarian diets, ischemic heart disease risk, and all cause mortality: evidence from epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70: 500S-503S.
 - ◆ **Sadler, M. J. (2004).** Meat alternatives-market developments and health benefits. *Treds in Tood Science and Technology*, 15: 250-260.

-
- ◆ **Saleh, N. T. & Ahmed, Z. S. (1998).** Impact of natural sources rich in provitamin A on cooking characteristics, colour, texture and sensory attributes of beef patties. *Meat Science*, 50 (3): 285-293.
 - ◆ **Sánchez-Escalante, A.; Djenane, D.; Torrecano, G.; Beltrán, J. A. & Roncales, P. (2001).** The effects of ascorbic acid, taurine, carnosine and rosemary powder on colour and lipid stability of beef patties packaged in modified atmosphere. *Meat Science*, 58: 421-429.
 - ◆ **Sánchez-Escalante, A.; Torrecano, G.; Djenane, D.; Beltrán, J. A. & Roncales, P. (2003).** Combined effect of modified atmosphere packaging and addition of lycopene rich tomato pulp, oregano and ascorbic acid and their mixtures on the stability of beef patties. *Food Science and Technology International*, 9: 77-84.
 - ◆ **Sandrou, D. K. & Arvanitoyannis, I. S. (2000).** Low-fat/calorie foods: Current state and perspectives. *Critical Review of Food Science and Technology*, 40: 427-447.
 - ◆ **Sandstead, H. H.; Darnell, L. S. & Walwork, J. C. (1990).** Role of zinc and the contribution of meat to human nutrition. In *Meat and Health. Advances in Meat Research*. A. M. Pearson y T. R. Dutson (Eds.). Vol. 9, pp. 237-274. Elsevier Applied Science. London.
 - ◆ **Sandstead, H. H. (1995).** Is zinc deficiencies a public health problem?. *Nutrition*, 11: 87-92.
 - ◆ **Sandstead, H. H. (2000).** Causes of iron and zinc deficiencies and their effects on brain. *Journal of Nutrition*, 130 (2S): 347S-349S.
 - ◆ **Sayem-El-Daher, N.; Simard, R. E. & Fillion, J. (1984).** Changes in the amine content of ground beef during storage and processing. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*.
 - ◆ **Schmidt, G. R. & Trout, G. R. (1982).** Chemistry of meat binding. In *Meat Science and Technology International Symposium Proceedings*. Lincoln, NE 1-4 November (pp.265). Chicago, IL. National Live Stock and Meat Board.
 - ◆ **Schmidt, G. R. & Jeans, W. J. (1986).** Process for preparing algin/calcium gel structured meat products. U. S. Patent 4.603.054.
 - ◆ **Schmidt, S.; Canigova, M. & Sevcova, J. (1987).** Properties of oils from pressed fruit seeds. *Bulletin-Potravinarskeho-Vyskumu*, 26 (3/4): 289-297.
 - ◆ **Schwartz, W. C. & Mandingo, R. W. (1976).** Effect of salt, sodium tripolyphosphate and storage on restructured pork. *Journal of Food Science*, 41: 1266.
 - ◆ **Secrist, J. L. (1987).** Restructured meats. The past and the present. In *Advances in Meat Research. Restructured meat and poultry products*. A. M. Pearson & T. R. Dutson. (Eds.). Vol. 3. Nueva York.
 - ◆ **Seideman, S. C.; Quenzer, N. M.; Dulanc, R. & Costollo, W. J. (1982).** Effects of hot-boning and particle thickness on restructured beef steaks. *Journal of Food Science*, 47: 1008-1009.
 - ◆ **Sellier, P. (1994).** The future role of molecular genetics in the control of meat production and meat quality. *Meat Science*, 36: 29-44.
 - ◆ **Serdaroğlu, N. (2005).** Improving low fat meatballs characteristics by adding whey powder. *Meat Science*, 72: 155-163.

- ◆ **Severini, C.; De Pilli, T. & Baiano, A. (2003).** Partial substitution of pork backfat with extra-virgin olive oil in “salami” products: effects on chemical, physical and sensory quality. *Meat Science*, 64: 323-331.
- ◆ **Shao, C. H.; Avens, J. S.; Schmidt, G. R. & Maga, J. A. (1999).** Functional, sensory and microbial properties of restructured beef and emu steak. *Journal of Food Science*, 64 (6): 1052-1054.
- ◆ **Sheard, P. R.; Jolley, P. D.; Mounsdon, R. & Hall, L. D. (1990).** Factors influencing the particle size distribution of flake meat. Effects of temperature, aperture size and prebreking before flaking. *International Science of Food Technology*, 483-505.
- ◆ **Sheard, P. R. (2002).** Processing and quality control of restructured meat. *Meat processing. Improving quality.* Kerry, J.; Kerry, J. & Ledward, D. (Eds.). Pp. 333-358. Woodhead Publishing Limited. England.
- ◆ **Sloan, A. E. (1999).** Top ten trends to watch and work on for the millenium. *Food Technology*, 53 (8): 40-60.
- ◆ **Sloan, A. E. (2000).** The top ten funtional foods trends. *Food Technology*, 54: 33-62.
- ◆ **Sloan, A. E. (2005).** Healthy Vending and Other Emerging Trends. *Food Technology*, 59 (4): 20-32.
- ◆ **Smith, T. A. (1980).** Amines in Food. *Food Chemistry*, 6: 169-200.
- ◆ **Sociedad Española de Nutrición Comunitaria. (SENC). (2005).** <http://www.nutricioncomunitaria.com>. Acceso 30/05/05.
- ◆ **Sofos, J. N. (1989).** Phosphates in meat products. *Developments in Food Preservation*, 5. Thornes, S. & Barking, U. (Eds.). U. K. Elsevier.
- ◆ **Souci, S. W.; Fachman, W. & Kraut, H. (1989).** *Food Composition and Nutrition Tablas 1989/1990.* Germany: Wissenschaftche Verlaggesellschaft mbH Stuttgart.
- ◆ **Stanley, D. W. & Tung, M. A. (1976).** Microstructure of food and its relation to texture. In *Rheology and Texture in Food Quality.* DeMan, J. M.; Voisey, P. W.; Rasper, W. F. & Stanley, D. W. (Eds.). The A V I Publisher Company, 28.
- ◆ **Steenblock, R. L.; Sebranek, J. G.; Olson, D. G. & Love, J. A. (2001).** The effects of oat fiber on the properties of lighth bologna and fat-free frankfurters. *Journal of Food Science*, 66 (9): 1409-1415.
- ◆ **Stratton, J. E.; Hutkins, R. W. & Taylor, S. L. (1991).** Biogenic amines in cheese and other fermented food: A review. *Journal of Food Protection*, 54: 460-470.
- ◆ **Surai, P. F. & Sparks, N. H. C. (2001).** Disigner eggs: from improvement of egg composition to functional food. *Treds in Food Science and Technology*, 12 (1): 7-16.
- ◆ **Suresh Devatkal; Mendiratta, S. K. & kondaiah, N. (2004).** Quality characteristics of loaves from buffalo meat, liver and vegetables. *Meat Science*, 67 (3): 377-383.
- ◆ **Tarrant, P. V. (1998).** Some research advance and future priorities in research for the meat industry. *Meat Science*, 49 (Suppl. 1): S1-S16.

- ◆ **Taylor, S. L. (1985).** Histamine poisoning associated with fish, cheese and other foods. Monografía (VPH/FOS/85.1), WHO, Geneva, Switzerland.
- ◆ **Trout, G. R. & Schmidt, G. R. (1987).** Nonprotein additives. In advances in Meat Research. Vol 3. Restructured meat and poultry products. Eds. Pearson, A. M. & Dutson, T. R. Avi Publisher. Nueva York.
- ◆ **Trout, G. R.; Chen, C. M. & Dale, S. (1990).** Effect of calcium and carbonate and sodium alginate on the textural characteristics, color and color stability of restructured pork chops. *Journal of Food Science*, 55 (1): 38-42.
- ◆ **Troutt, E. S.; Hunt, M. C.; Johnson, D. E.; Claus, J. R.; Kastner, C. I. & Kropf, D. H. (1992).** Characteristics of low-fat ground beef containing texture-modifying ingredients. *Journal of Food Science*, 57: 19-24.
- ◆ **Tsai, S. J.; Unklesbay, N.; Unklesbay, K. & Clarke, A. (1998).** Textural properties of restructured beef products with five binders at four isothermal temperatures. *Journal of Food Quality*, 21 (5): 397-410.
- ◆ **Tseng, T. F., Liu, D. D. & Chen, M. T. (2000).** Evaluation of transglutaminase on the quality of low-salt chicken meat-balls. *Meat Science*, 55 (4): 427-431.
- ◆ **Turhan, S.; Sagir, I. & Sule Ustum, N. (2005).** Utilization of hazelnut pellicle in low-fat beef burgers. *Meat Science*, 71: 312-316.
- ◆ **Työppönen, S.; Peäjä, E. & Mattila-Sandholm, T. (2003).** Bioprotective and probiotics for dry sausages. *International Journal of Food and Microbiology*, 83: 233-244.
- ◆ **Unión Europea (UE) (2006).** <http://europa.eu.int/comm/food/labellingnutrition/foodlabelling/guidelines.pdf>. Acceso: 10/01/2006.
- ◆ **Uhe, A. M.; Collier, G. R. & O'Dea, K. (1992).** A comparison of the effects of beef chicken and fish protein on satiety and amino acid profiles. *Journal of Nutrition*, 122: 467-472.
- ◆ **Ulbricht, T. L. & Southgate, D. T. A. (1991).** Coronary heart disease. Seven dietary factors. *The Lancet*, 338 (8773): 985-992.
- ◆ **Ulrich, C. M. & Potter, J. D. (2004).** Diet, genes, and cancer risk. In Senate Commission on Food Safety. Ed. Functional Foods: Safety aspects. Weinheim: Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA.
- ◆ **Umphress, S. T.; Murphy, S. P.; Franke, A. A.; Custer, L. J. & Blitz, C. L. (2005).** Isoflavone content of food with soy additives. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 533-550.
- ◆ **USDA, U.S. (2004).** Agriculture Food Research. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 17. Disponible en. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR17/reports/sr17fg13.pdf>. Acceso 28/10/2004.
- ◆ **Van de Vijver, L. P.; Kardinaal, A. F.; Couet, C.; Aro, A.; Kafatos, A.; Steingrimsdottir, L.; Amorim Cruz, J. A.; Moreiras, O.; Becker, W.; van Amelsvoort, J. M.; Vidal-Jessel, S.; Salminen, I.; Moschandreas, J.; Sigfusson, N.; Martins, I.; Carbajal, A.; Ytterfors, A. & van Poppel, G. (2000).** Association between trans fatty acid

- intake and cardiovascular risk factors in Europe: the TRANSFAIR study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54: 126-135.
- ◆ **Vaquero, P. (2001).** Nutrición y enfermedades metabólicas del hueso. La alimentación y la nutrición en el siglo XXI.
 - ◆ **Varela, G.; Moreiras, O.; Carbajal, A. & Campo, M. (1995).** Estudio nacional de Nutrición y Alimentación 1991. Encuesta de Presupuestos Familiares 1990/91. (ENNA-3). Vol. I, INE (Instituto Nacional de Estadística). Madrid.
 - ◆ **Vural, H.; Javidipour, I. & Ozbas, O. O. (2004).** Effects of interesterified vegetable oils and sugarbeet fibre on the quality of frankfurters. *Meat Science*, 67: 65-72.
 - ◆ **Walker, A. R. P. (1998).** The Remediating of Iron Deficiency: What Priority Should it Have?. *British of Journal Nutrition*. 79: 227-235.
 - ◆ **Wang, B.; Xiong, Y. L. & Moody, W. G. (1999).** Physicochemical and sensory properties of restructured beef steaks containing beef heart surimi. *International Journal of Food Science and Technology*, 34: 351-358.
 - ◆ **Weiner, P. D. (1987).** Formulations for Restructured Poultry Products. In *Advances in Meat Research*. Means, W. J. & Schmitdt, G. R. Vol 3, pp. 405-431.
 - ◆ **Weng, W. & Chen, J. (1996).** The Eastern Perspective on Functional Foods Based on Traditional Chinese Medicine. *Nutrition Review*, 54:11(II) S11-S16.
 - ◆ **Whiting, R. G. (1988).** Ingrediets and processing factors that control protein functionality. *Food Technology*, 42: 104-114, 210.
 - ◆ **Whiting, R. G.; Strange, E. D; Cronlund, A. L & Miller, A. J. (1987).** Effect of connective tissues on the sensory textural scores and shear forces of restructured beef steaks. In *Proceedings on 33rd International Congress of Meat Science and Technology*. European Meeting of Meat Research Workers. Vol 2. Helsinki, Finlandia.
 - ◆ **Wijngaards, G. & Paardekooper, E. J. C. (1988).** Preparation oa a composite meat product by means of an enzymatically formed protein gel. In *Trends in modern meat technology*. II Proceedings of the international symposium, Den Doldes, Netherlands.
 - ◆ **Wirth, F. (1991).** Reducing the fat and sodium content of meat products. What possibilities are there?. *Fleischwirtschaf*, 71: 294-297.
 - ◆ **Wood, J.D.; Richardson, R. I.; Nute, G. R.; Fisher, A. V.; Campo, M. M.; Kasapidou, E. (2003).** Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66 (1): 21-32.
 - ◆ **Yilmaz, I.; Simsek, O. & Isikli, M. (2002).** Fatty acid composition and quality characteristics of low-fat cooked sausages made with beef and chicken meat, toamto juice and sunflower oil. *Meat Science*, 62: 253-258.
 - ◆ **Yilmaz, I. (2004).** Effects of rye bran addition on fatty acid composition and quality characteristics of low-fat meatballs. *Meat Science*, 67: 245-249.
 - ◆ **Zambón, D.; Sabaté, J.; Muñoz, S.; Campero, B.; Casals, E.; Merlos, M.; Laguna, J. C. & Ros, E. (2000).** *Annals of Internal Medicine*, 132: 538-546.

- ◆ **Zheng, J. J.; Mason, J. B.; Rosenberg, I. H. & Wood, R. J. (1993).** Measurement of zinc bioavailability from beef and a ready-to-eat high-fiber breakfast cereal. *Food Chemistry*, 45: 320-326.
- ◆ **Zottola, E. A. & Smith, L. B. (1990).** Pathogenic bacteria in meat products. In *Meat and Health. Advances in Meat Research*. Pearson, A. M. & Dutson, T. R. (Eds.). Vol 6, pp. 157-184. Elsevier Applied Science. Londres.

VII.- ANEXOS.

ANEXO I.

CARACTERÍSTICAS DE REESTRUCTURADOS CÁRNICOS FORMULADOS CON NUEZ: GELIFICACIÓN MEDIANTE TRANSGLUTAMINASA.

A. Serrano*, S. Cofrades y F. Jiménez Colmenero.

Instituto del Frío (CSIC). C/ José Antonio Novais, 10. Ciudad Universitaria, 28040. Madrid.

e-mail: aserrano@if.csic.es

Palabras clave: nuez, transglutaminasa, propiedades ligantes.

RESUMEN

Se ha estudiado la utilización de transglutaminasa (en presencia de sal) como agente ligante en reestructurados cárnicos de vacuno formulados con diferentes proporciones de nuez (0, 10, 20 %). Los resultados obtenidos demuestran que los productos elaborados presentaron adecuadas características sensoriales y excelentes propiedades ligantes de agua y grasa que se mantuvieron durante su conservación en refrigeración. La incorporación de nuez, provocó un incremento en los parámetros L^* y b^* , así como una disminución de a^* , el cual aumentó ($P < 0,05$) durante la conservación. Los productos formulados contienen compuestos bioactivos cardiosaludables procedentes de la nuez (Solicitud de Patente nº 200300367).

INTRODUCCIÓN

El cada vez mayor conocimiento del impacto de la alimentación en la salud está favoreciendo el desarrollo de alimentos más saludables. Este es el caso de los llamados “alimentos funcionales”, que son aquellos que, al margen de su valor nutritivo propiamente dicho, contienen niveles importantes de componentes biológicamente activos que ofrecen determinados efectos beneficiosos para la salud, contribuyen al bienestar y/o reducen el riesgo de enfermedades.

Recientes estudios epidemiológicos han constatado que el consumo frecuente de frutos secos y en especial nueces, reducen el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares (Sabaté et al., 1999). Estos efectos beneficiosos, atribuibles a la presencia de distintos compuestos bioactivos de las nueces (ácidos grasos poliinsaturados α -linoléico y α -linolénico, antioxidantes, etc.), han motivado la recomendación de introducir las nueces como elemento fundamental de nuestra dieta diaria. Sin embargo, por diversas razones una gran parte de la población no es capaz de consumir nueces como tal, de forma sistemática y continua (Diehl, 2002). Una manera de favorecer su ingestión sería incorporarlas como ingrediente en alimentos de consumo frecuente, caso de los derivados cárnicos (Jiménez Colmenero et al., b 2003).

Se han elaborado productos cárnicos con cantidades variables de nuez de distinto grado de tamaño de partícula (Jiménez Colmenero et al., a 2003; Cofrades et al., 2003). Dado que los consumidores centran sus preferencias en los productos mínimamente procesados, en los últimos años se han desarrollado diversos sistemas de ligazón en frío que harían posible situar en el mercado reestructurados frescos. Uno de estos procedimientos se basa en la utilización de transglutaminasa microbiana (TGM), enzima que cataliza la formación de uniones covalentes en diferentes proteínas, permitiendo reducir o eliminar la necesidad de añadir sal o fosfatos (Nielsen et al., 1995; Kuraishi et al., 1997), sin embargo los productos así formulados presentan muy pobres propiedades ligantes de agua (Carballo et al., 2003), lo que supone un grave inconveniente.

Se han realizado diversos estudios sobre la aplicación de transglutaminasa en productos cárnicos desarrollando su actividad a bajas temperaturas ($< 10^{\circ}\text{C}$) y periodos de tiempo, generalmente inferiores a 24 hrs, antes de ser inactivada por congelación (Kuraishi et al., 1997) o calentamiento (Pietrasik et al., 2003). Por razones prácticas, el efecto de la transglutaminasa en reestructurados cárnicos debe ser estudiado a más largo plazo, es decir durante periodos acordes con las condiciones habituales de comercialización de estos productos en refrigeración. Sin

embargo, apenas existen estudios que evalúen como dicha conservación afecta a las características del producto.

En tal sentido el objetivo de este trabajo es doble. Por un lado analizar algunas características físico-químicas y sensoriales de reestructurados cárnicos de vacuno, utilizando transglutaminasa/caseinato (y sal) como agente ligante, formulados con diferentes proporciones de nuez (0, 10, 20 %). Y por otro conocer como el periodo de conservación en refrigeración (6 días) afecta las propiedades ligantes de agua y grasa y el color del producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Carne de vacuno, libre de restos visibles de grasa y tejido conectivo, fue sometida a picado (2 cm diámetro de orificio). Los productos conteniendo 0, 10 y 20 % de nuez (tamaño de partícula <0,8 mm), 2 % NaCl, 0,3 % tripolisfosfato sódico, 0,7 % TGM (Activa WM, Ajinomoto Europa Sales GmbH, Hamburg, Alemania), 3 % caseinato y 10 % de agua, fueron preparados en una en una mezcladora (Mainca, Granollers, España). Las tres formulaciones se introdujeron en moldes de acero inoxidable (1250 grs), permaneciendo 12 hrs a 3 °C para permitir a la TGM ejercer su actividad. A continuación las muestras fueron mantenidas a -20 °C, el tiempo suficiente para dotarlas de una consistencia apropiada para facilitar la obtención de filetes (1 cm de grosor aprox.), los cuales se conservaron envasados a vacío a 3 ± 1 °C, durante 6 días.

El porcentaje de humedad, grasa y cenizas de las muestras se cuantificó según el procedimiento de la AOAC (1984). La cantidad de proteína fue determinada en un Detector de Nitrógeno LECO FP-2000 (Leco Corporation, St Joseph, MI, USA).

Las propiedades sensoriales fueron estimadas, inicialmente, con un panel de catadores entrenado previamente con los productos y la terminología. El panel evaluó las muestras en una escala no graduada (de 10 cm), sin límites en los extremos. Los parámetros así medidos fueron: flavor, textura y aceptabilidad general. Cada uno de los puntos marcados, se convirtió en un valor numérico, de acuerdo con la localización sobre la escala. Se analizaron tres muestras por sesión.

Tres filetes de cada formulación, se sacaron del envase, se dejaron a temperatura ambiente (TA) durante 15 min., procediéndose a continuación a su secado con papel secante para eliminar el exudado. Las pérdidas por conservación se estimaron como peso perdido (%). A continuación dichos filetes, se sometieron a un tratamiento térmico en un horno (Rational CM6, Großküchentechnik GmbH, Landsberg a. Lech), hasta alcanzar 70 °C en el centro térmico (170 °C/10 min.). Después de 30 min. a TA, se eliminó con papel secante restos de exudado en superficie. Las pérdidas por cocción se determinaron como peso perdido (%).

Las coordenadas de color de la superficie de los filetes sin tratamiento térmico (L^* , luminosidad; a^* , rojo/verde y b^* , amarillo/azul), se determinaron en un colorímetro HunterLab modelo D25-9 (D45/2°) (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA, USA). La medida se realizó en tres filetes de cada formulación, realizándose seis determinaciones por filete (tres por cada lado).

Diferencia ($P < 0,05$) entre medias se establecieron mediante análisis de varianza de una (porcentaje de nuez) y dos vías (porcentaje de nuez y periodo de conservación) fueron determinadas en el Statgraphics 2.1 (STSC Inc., Rockville. MD).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como cabia esperar, los diferentes porcentajes de nuez añadida, afectaron significativamente a la composición de los reestructurados cárnicos (Tabla 1). Mientras que el porcentaje de grasa aumento ($P < 0,05$) progresivamente con la incorporación de nuez, el de humedad fue disminuyendo ($P < 0,05$). El hecho de que el incremento de la concentración de nuez se realizara a expensas del de carne, favorece el aumento en la proporción de los compuestos bioactivos procedentes de la nuez, originando productos potencialmente más saludables.

Tabla 1.- Composición (%) y evaluación sensorial de los filetes reestructurados.

%NUEZ	Composición				Parámetros sensoriales			
	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Flavor	FDC	Textura	AG
0	72,34 ^a	18,47 ^a	2,16 ^a	3,29 ^a	2,97 ^a	1,35 ^a	1,70 ^a	2,08 ^a
10	66,54 ^b	16,36 ^b	8,26 ^b	3,55 ^b	5,47 ^b	2,64 ^b	4,24 ^b	5,35 ^b
20	60,78 ^c	15,68 ^b	13,59 ^c	3,51 ^b	7,47 ^c	3,78 ^c	6,55 ^c	7,37 ^c
SEM	0,12	0,18	0,23	0,02	0,39	0,18	0,44	0,53

SEM = error estándar de la media. Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$). Escala para Flavor, textura y aceptabilidad general (AG) (0: no gusta nada y 10: gusta mucho). Escala para Flavor diferente a carne (FDC) (1: nada y 5: intenso).

La incorporación de nuez condicionó los atributos sensoriales de los reestructurados cárnicos (Tabla 1). En tal sentido los catadores apreciaron ciertas notas de flavor (diferente a carne), de manera más acusada ($P < 0,05$) a medida que fue mayor el porcentaje de nuez. Según se desprende de la valoración realizada de las distintas muestras (Tabla 1), el aumento de la proporción de nuez fue estimado como un hecho positivo, resultando productos con mejores propiedades sensoriales que el control (0% nuez). Resultados similares han sido descritos por Jiménez Colmenero et al. (2003).

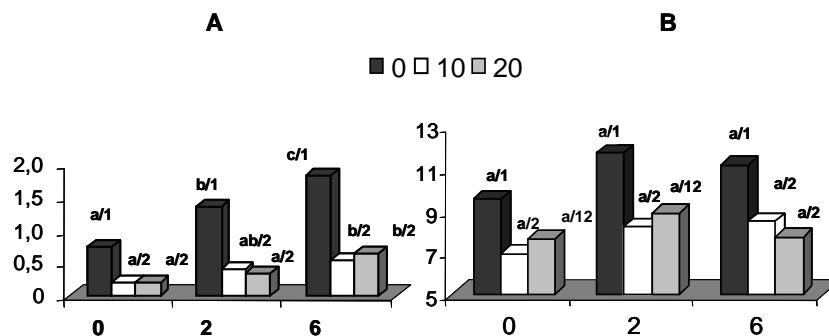


Figura 1. Pérdidas de peso durante la conservación (A) y por cocción (B) (%). Diferentes números para el porcentaje de nuez y diferentes letras para distintos días de conservación indican, diferencias significativas ($P < 0,05$).

La liberación de exudado durante la conservación fue mayor ($P < 0,05$) en los productos con el 20 % de nuez (Figura 1A). Por efecto de la conservación se produjo un aumento ($P < 0,05$) de pérdidas de peso, más acusado a los 6 días. En general las pérdidas por cocción disminuyeron con la incorporación de nuez (Figura 1B) (Jiménez Colmenero et al., 2003), no observándose efecto alguno ($P > 0,05$) debido al periodo de conservación. Los niveles de pérdidas de peso demuestran que los productos formulados presentan excelentes propiedades ligantes de grasa y agua (Figura 1, A y B), y aunque existen varios factores que pueden influir, tal fenómeno es atribuible fundamentalmente al efecto de la sal y no a la acción de la transglutaminasa (Carballo et al., 2003).

El color es una de las principales características que condicionan la aceptabilidad del producto. La incorporación de nuez, provocó un incremento en las coordenadas L^* y b^* , así como una disminución de la a^* (Tabla 2). El periodo de conservación no afectó ($P > 0,05$) a los valores de L^* y b^* , mientras que sí produjo un aumento de a^* .

^I La figura que aparece en el trabajo enviado al congreso contenía un error. En este anexo se ha introducido la figura corregida.

Tabla 2.- Medida de las coordenadas de color (L* luminosidad; a* rojo/verde; b* amarillo/azul) de los filetes reestructurados crudos.

%NUEZ	L*		a*		b*	
	Día 0	Día 6	Día 0	Día 6	Día 0	Día 6
0	32,89 ^a ₁	33,88 ^a ₁	16,61 ^a ₁	17,07 ^a ₁	10,30 ^a ₁	10,32 ^a ₁
10	41,13 ^a ₂	40,38 ^a ₂	11,10 ^a ₂	13,75 ^b ₂	12,41 ^a ₂	12,33 ^a ₂
20	42,85 ^a ₂	42,10 ^a ₃	6,63 ^a ₃	12,97 ^b ₂	13,00 ^a ₂	12,95 ^a ₂
SEM	0,26	0,26	0,32	0,32	0,16	0,16

SEM = error estándar de la media. Diferentes letras en una misma fila y diferentes números en una misma columna indican diferencia significativa (P<0,05).

Así pues se puede concluir que los productos formulados con nuez presentaron adecuadas características sensoriales y excelentes propiedades ligantes de agua y grasa.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido realizada al amparo de los proyectos ALI99-1105 y AGL2001-2398-C03-01. La nuez fue suministrada por Bernardo Josa Quilez, Paterna, Valencia.

BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Carballo, J., Ayo, J. & Jiménez Colmenero, F. (2003). *Meat Sci.* En recensión.
- Cofrades, S., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Carballo, J. & Jiménez Colmenero, F. (2003) *J. Sci. Food. Agric.* En recensión.
- Diehl, J. F. (2002). The stage is set for nutrition message in Europe. International Tree Nut Council-INC. http://inc.treenuts.org/art_apr01_2.html
- Jiménez Colmenero, F., Serrano, A., Ayo, J., Solas, M. T., Cofrades, S. & Carballo, J. a(2003) *Meat Sci.* En prensa.
- Jiménez Colmenero et al., b(2003). Productos cárnicos con compuestos bioactivos cardiosaludables incorporados mediante la adición de frutos secos, preferentemente nuez. Solicitud de patente 200300367.
- Kuraishi, C., Sakamoto, J., Yamazani, K., Susa, Y., Kuharaishi, C., & Soeda, T. (1997). *J. Food Sc.*, 62(3), 488-490, 515.
- Nielsen, G.S., Petersen B. R., & Moller A. J. (1995). *Meat Sci.*, 41(3), 293-299.
- Pietrasik, Z., & Jarmoluk, A. (2003). *Food Res. Inter.*, 36(3), 285-294.
- Sabaté, J. (1999). *Am. J. Clin. Nutr.*, 70, 500S-3S.



CARACTERÍSTICAS DE REESTRUCTURADOS CÁRNICOS FORMULADOS CON NUEZ: GELIFICACIÓN EN FRÍO MEDIANTE TRANSGLUTAMINASA.

A. Serrano*, S. Cofrades y F. Jiménez Colmenero
 Instituto del Frío (CSIC). C/ José Antonio Novais, 10.
 Ciudad Universitaria, 28040 Madrid.

INTRODUCCIÓN

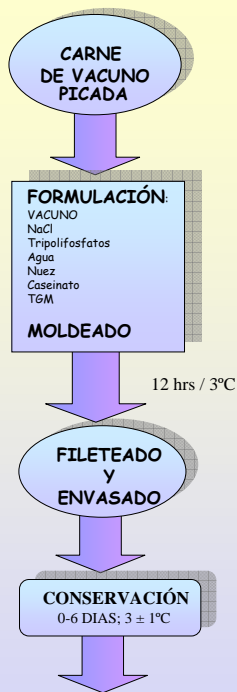
El cada vez mayor conocimiento del impacto de la alimentación en la salud está favoreciendo el desarrollo de alimentos más saludables. Este es el caso de los llamados "alimentos funcionales".

Recientes estudios epidemiológicos han constatado que el consumo frecuente de frutos secos y en especial nuez, reducen el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares, debido a sus compuestos bioactivos, entre los que cabe destacar los ácidos grasos poliinsaturados.

Los reestructurados cárnicos presentan numerosas ventajas como la posibilidad de crear productos en estado fresco (más apreciado por los consumidores), gracias a la transglutaminasa microbiana (TGM) que es un buen sistema de ligazón en frío. Se añade sal y fosfato para mejorar las propiedades ligantes de agua. Con la incorporación de nuez los productos formulados contienen compuestos bioactivos cardiosaludables (Solicitud de Patente nº200300367).

El objetivo de este trabajo es doble, por una lado se pretende analizar algunas características físico químicas y sensoriales de reestructurados cárnicos de vacuno, utilizando TGM/caseinato y sal como agente ligante, formulados con diferentes proporciones de nuez (0, 10, 20 %). Y por otro conocer como el período de conservación en refrigeración (6 días) afecta a las propiedades ligantes de agua y grasa y color del producto.

MATERIALES Y MÉTODOS



DETERMINACIONES:

- COMPOSICIÓN. } DIA 0
- PROPIEDADES SENSORIALES. } DIA 0, 2 y 6
- PROPIEDADES LIGANTES DE AGUA Y GRASA: } DIA 0, 2 y 6
 - PÉRDIDAS POR CONSERVACIÓN (%)
 - PÉRDIDAS POR COCCIÓN (%)
- COLOR (L*; a*; b*) } DIAS 0 y 6

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1.- Composición (%) de los filetes reestructurados.

%NUEZ	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas
0	72,34 ^a	18,47 ^a	2,16 ^a	3,29 ^a
10	66,54 ^b	16,36 ^b	8,26 ^b	3,55 ^b
20	60,78 ^c	15,68 ^b	13,59 ^c	3,51 ^b
SEM	0,12	0,18	0,23	0,02

SEM = error estándar de la media. Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas (P<0,05).

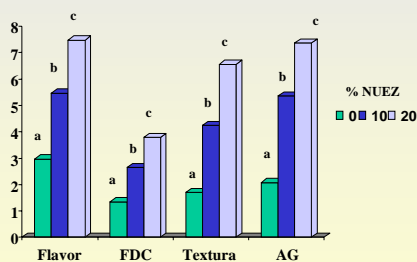


Figura 1.- Evaluación sensorial. Diferentes letras indican diferencias significativas (P<0,05). Aceptabilidad general (AG) y Flavor diferente de carne (FDC).

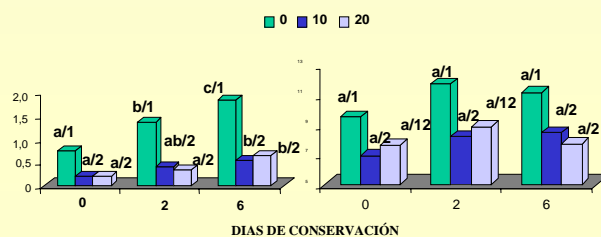


Figura 2.- Pérdidas de peso durante la conservación (A) y por cocción (B) (%). Diferentes números para el porcentaje de nuez y diferentes letras para distintos días de conservación, indican diferencias significativas (P<0,05).

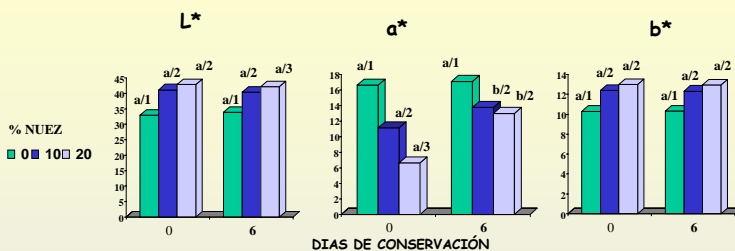


Figura 3.- Medida de las coordenadas de color (L* luminosidad; a* rojo/verde; b* amarillo/azul) de los filetes reestructurados crudos. Diferentes números para el porcentaje de nuez y diferentes letras para distintos días de conservación, indican diferencias significativas (P<0,05).

- ✓ La incorporación de nuez condiciona la composición química de los reestructurados, incrementando la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados.
- ✓ Los resultados obtenidos demuestran que los productos elaborados presentaron adecuadas características sensoriales y excelentes propiedades ligantes de agua y grasa, que mantuvieron durante la conservación en refrigeración.
- ✓ La incorporación de nuez, provocó un incremento en los parámetros L* y b*, así como una disminución de a*, el cual aumentó (P<0,05) durante la conservación.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido realizada al amparo de los proyectos ALI99-1105 y AGL2001-2398-CO3-01.

e-mail: aserrano@if.csic.es

ANEXO II.



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 245 218**

② Número de solicitud: 200400548

⑤ Int. Cl.7: **A23L 1/317**
A23L 1/29

⑫

SOLICITUD DE ADICIÓN A LA PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **05.03.2004**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **16.12.2005**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
16.12.2005

⑥ Número de solicitud de la patente principal:
200300367

⑦ Solicitante/s:
**Consejo Superior de Investigaciones Científicas
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES
Universidad Complutense de Madrid;
Begoña Olmedilla Alonso;
Fernando Granado Lorenzo y
Inmaculada Blanco Navarro**

⑦ Inventor/es: **Jiménez Colmenero, Francisco;
Carballo Santaolalla, José;
Cofrades Barbero, Susana;
Ayo Martínez, María Jesús;
Serrano Agulló, Asunción;
Olmedilla Alonso, Begoña;
Granado Lorenzo, Fernando;
Blanco Navarro, Inmaculada y
Sánchez Muñiz, Francisco**

⑦ Agente: **No consta**

⑤ Título: **Mejora de la patente productos cárnicos con compuestos bioactivos cardiosaludables incorporados mediante la adición de frutos secos, preferentemente nuez.**

⑤ Resumen:

Mejora de la patente productos cárnicos con compuestos bioactivos cardiosaludables incorporados mediante la adición de frutos secos, preferentemente nuez.

La invención consiste en la obtención de derivados cárnicos reformulados mediante la adición de frutos secos, preferentemente nuez para contener diversos compuestos bioactivos cardiosaludables mejorada con la utilización de distintas coberturas (películas comestibles) para dotar a dichos reestructurados de una apariencia similar a un filete y con los apropiados factores de calidad (sensoriales, tecnológicas, nutricionales y de seguridad). La principal ventaja radica en su potencial efecto saludable al reducir ciertos compuestos no deseados, y por otro incorporar una combinación de compuestos bioactivos con actividades y efectos beneficiosos desde el punto de vista cardiovascular. Su aplicación industrial consistiría en la producción y comercialización de estos alimentos, de cara a un mercado de enorme repercusión futura, ya que podrían ser muy apreciados por ciertos sectores de la población.

ES 2 245 218 A1

