



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Caracterización química del aroma de matrices de interés

Chemical characterization of the aroma of relevant matrices

Autor/es

Laura Espada Rodríguez

Director/es

Ricardo López Gómez

Facultad de Ciencias. Departamento de Química Analítica.
Zaragoza, 2017

ÍNDICE

Resumen en español	2
Abstract	3
1. Introducción	4
1.1 Evaluación sensorial de la calidad	4
1.2 Efectos del almacenamiento y empaquetado sobre la calidad de la carne.....	4
2. Objetivos.....	6
3. Material y métodos experimentales	6
3.1 Muestras.....	6
3.2 Materiales	7
3.3 Preparación de muestras para análisis	8
3.4 Procedimiento de extracción de aromas mediante espacio de cabeza dinámico – extracción en fase sólida (DHS-SPE)	10
3.5 Cromatografía de gases – olfatometría (GC-O).....	11
3.6 Cromatografía de gases – espectrometría de masas (GC-MS)	12
3.7 Aislamiento de compuestos mediante GC-O-GC-O-MS	12
4. Resultados y discusión.....	13
4.1 Optimización.....	13
4.2 Estudio de muestras de carne cruda derivadas de la exposición ante atmósfera modificada con oxígeno	15
5. Conclusiones.....	25
6. Bibliografía.....	26

RESUMEN EN ESPAÑOL

El creciente interés por mejorar la aceptación de los alimentos, por parte del consumidor, ha conducido a empresas y laboratorios a un aumento en el número de estudios realizados que tienen como objetivo mejorar y optimizar los productos alimenticios ofertados, asegurando así su calidad. Teniendo en cuenta esto, es de esperar que atributos tales como el color, el sabor y el aroma sean las principales dianas de estos estudios.

Por ello este estudio se ha centrado en la evaluación sensorial, el aislamiento e identificación de los compuestos químicos causantes del aroma de la carne cruda que podemos encontrar a la venta en nuestros supermercados. En la actualidad, la industria cárnica utiliza un envase de atmósfera modificada con alto contenido de oxígeno (MAP) para mantener un color atractivo en la carne fresca. Sin embargo, bajo estas condiciones también se puede promover la oxidación de los lípidos presentes en la carne, corrompiéndose y generando olores desagradables que pueden provocar rechazo del producto por parte del consumidor.

Para realizar dicho estudio, se procedió al análisis de muestras de carne que habían sido empaquetadas bajo condiciones de atmósfera modificada y, posteriormente, expuestas en una vitrina de venta al por menor simulada, con iluminación fluorescente, durante periodos de tiempo distintos (0, 5 y 9 días). Las técnicas instrumentales empleadas para dicho análisis han sido: espacio de cabeza dinámico, extracción en fase sólida, cromatografía de gases – olfatometría (CG-O), cromatografía de gases – espectrometría de masas (GC-MS) y sistema dual GC-O-GC-O-MS.

Tras el análisis de los resultados obtenidos, se pudo percibir que el aumento en el tiempo de contacto entre la atmósfera modificada con oxígeno del envasado y la carne, junto con una mayor exposición a la luz (fluorescente), se traducía en una mayor cantidad de compuestos de aroma desagradable, indicadores de un mal estado de la carne.

ABSTRACT

The crescent interest on improving the acceptance of food by the consumer, has led companies and laboratories to increase the number of optimization and upturn studies focused on those alimentary products, certifying their quality and upcoming sale. Given those facts, attributes such as color, flavor and aroma are expected to be the main targets of these studies.

Therefore, this study has focused on the sensorial evaluation, isolation and identification of chemical compounds producing the aroma of raw meat that we can find on sale at our supermarkets. Nowadays, the meat industry uses a modified atmosphere package (MAP) with high oxygen content in order to maintain an attractive color in fresh meat. However, under these conditions it can also promote the oxidation of lipids present in the meat, corrupting and generating unpleasant odors able to produce consumer's rejection.

In order to make this study, the meat samples that had been packaged under modified atmosphere conditions and then, exposed in a simulated retail display cabinet with fluorescent lighting were analyzed for different time periods (0, 5 and 9 days). The instrumental techniques used in the analysis were: dynamic headspace, solid phase extraction, gas chromatography - olfactometry (GC-O), gas chromatography - mass spectrometry (GC-MS) and dual sistem GC-O-GC-O-MS.

After analyzing the obtained results, it was possible to perceive that the increase in the contact time between the atmosphere modified with oxygen of the packaging and the meat, together with a greater exposure to light (fluorescent), was translated in a greater quantity of compounds with unpleasant aroma, indicators of a poor state of the meat.

1.- INTRODUCCIÓN

1.1. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA CALIDAD

La evaluación sensorial es una disciplina que tiene como objetivo medir la calidad de los alimentos con el fin de mejorar la aceptación de los productos por parte del consumidor. Dicha evaluación sensorial se tiene en cuenta para la mejora, caracterización y optimización de los productos alimenticios, así como para realizar investigaciones encaminadas a la elaboración e innovación de nuevos productos, en el aseguramiento de la calidad para su promoción y venta ¹¹.

El análisis sensorial puede ser utilizado para evaluar la aceptación o el rechazo de un alimento por parte del catador o consumidor, de acuerdo a las sensaciones experimentadas durante la exposición a dicho producto. Esas sensaciones variarán en función de factores tales como el tipo de individuo que realiza el análisis (experto, consumidor, ...), el entorno o el tiempo de exposición a dicho producto, entre otros ¹¹.

1.2. EFECTOS DEL ALMACENAMIENTO Y EMPAQUETADO SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE.

Hoy en día y cada vez más en nuestros supermercados los consumidores encontramos una gran variedad de productos cárnicos que se nos presentan envasados bajo atmósfera protectora. Este tipo de envases tienen como objetivo mantener en los productos cárnicos ofertados un aspecto aceptable, olor y sabor, además de retrasar el inicio del deterioro microbiano. Lo recomendable sería una atmósfera pobre en oxígeno para evitar la descomposición, sin embargo, en esas condiciones la carne roja, como la de vacuno, pierde su color rojo tan atractivo (derivado de la oxidación de la mioglobina presente en la carne a oximioglobina), tornándose marrón. Es por esta razón que las atmósferas modificadas (MAP) empleadas en el envasado han sido ampliamente estudiadas y el oxígeno se encuentra presente en casi todas ellas, normalmente en altas proporciones debido a la mejora del color y la estabilidad microbiológica de la carne así empaquetada ¹⁹.

La combinación de gases típicamente utilizada para la carne de vacuno varía del 75% a 80% de O₂ y del 20% a 25% de CO₂, aunque el aumento del contenido de oxígeno a niveles superiores al 55% puede no proporcionar beneficios adicionales en el deterioro del color ¹². La función del dióxido de carbono en MAP es inhibir el crecimiento de bacterias deteriorantes, controlando la alteración microbiana que de otro modo surgiría a concentraciones de oxígeno elevadas ²⁷. La principal función del oxígeno es mantener el color rojo brillante (atractivo para el consumidor) de la oximioglobina, forma oxigenada de la mioglobina del pigmento muscular ¹³.

Por otra parte, los altos niveles de oxígeno dentro del MAP promueven la oxidación de los lípidos con el tiempo, con un efecto perjudicial sobre el aroma y el color de la carne fresca, ya que también se acelera la oxidación de la mioglobina ²⁰. La oxidación de lípidos es un proceso importante de deterioro de la calidad en los alimentos

musculares que resulta en una variedad de productos de descomposición que producen olores y sabores indeseables.

No obstante, hay que tener en cuenta que son numerosos los factores que afectan a la oxidación de los lípidos, incluyendo entre ellos la luz⁵. El efecto de la luz sobre estos procesos de oxidación ya ha sido documentado en varios estudios sobre distintos tipos de muestras alimentarias tales como aceite, leche y carne^{1, 6, 25}.

La luz, irradiada sobre los productos cárnicos crudos durante su exposición a la venta, actúa como catalizador de las reacciones de oxidación lipídicas por medio de la generación de radicales libres y moléculas activadas. De este modo, tienen lugar un conjunto de reacciones que se inician por la adición del oxígeno atmosférico a un ácido graso (poliinsaturado) y que, posteriormente, llevan a la formación de compuestos volátiles (principalmente aldehídos y cetonas) que confieren un olor desagradable al producto¹³. La luz UV, empleada para impedir el crecimiento microbiano, es más eficaz que la luz visible para inducir la oxidación de lípidos y pigmentos, contribuyendo al enranciamiento oxidativo de la grasa presente en la carne y acelerando la formación de metamioglobina marrón en la parte magra¹⁷.

La atmósfera dentro de un paquete MAP puede alterarse durante el almacenamiento debido a reacciones entre los componentes de la atmósfera y el producto y/o debido a la transmisión de gases dentro o fuera del envase a través de la película de envasado²⁸. En el caso concreto de los productos cárnicos, pueden producirse procesos de oxidación no deseados durante el almacenamiento, especialmente procesos de oxidación de lípidos²⁹. Los ácidos grasos poliinsaturados presentes en las membranas cárnicas son particularmente susceptibles a la oxidación¹⁷. Se ha demostrado recientemente que el oxígeno es un catalizador directo de este tipo de reacciones, que se producen en el músculo. Estos procesos de oxidación lipídica pueden producir una degradación del aroma/gusto volviéndose desagradable, lo que puede causar un rechazo por parte del consumidor⁵. Este deterioro del olor y gusto de la carne está directamente relacionado con los cambios en los ácidos grasos¹⁸. Por tanto, es de esperar que cuanto mayor sea el tiempo de contacto entre los productos cárnicos y el oxígeno, mayor sea el número de reacciones de oxidación que tengan lugar. En estudios anteriores ya se hizo referencia a que el aumento del número de reacciones de oxidación, en gran parte lipídicas, generará un aumento de los aldehídos presentes en la carne que llegará a notarse a nivel sensorial²⁴.

A pesar de que la carne cruda tiene poco aroma, es importante investigar si el procesamiento bajo atmósfera modificada con oxígeno mantiene el perfil de aroma de la carne cruda, ya que los compuestos volátiles liberados al abrir el envase deben ser aceptables para los consumidores y deben permanecer estables durante algún tiempo adicional en el frigorífico²⁶.

Además, el aroma es el principal determinante del sabor de la carne, lo que sugiere que el conocimiento de los compuestos químicos responsables de las diferentes

percepciones aromáticas vinculadas al consumo de carne es esencial para entender su calidad ¹⁸.

Se han realizado muchos trabajos sobre el análisis del aroma de carne cocinada o imitando las condiciones de la boca humana (37°C, adición de saliva...) pero no directamente sobre la carne cruda como es el caso de la presente memoria ^{9, 12, 14, 15, 3}.

2.- OBJETIVOS

Este trabajo intenta alcanzar varios objetivos relacionados con el estudio en profundidad de la base química del aroma de la carne de ternera cruda.

En primer lugar, se ha llevado a cabo un proceso de optimización del método de extracción del aroma en muestras de carne cruda.

Posteriormente, la prioridad ha sido el aislamiento e identificación de los compuestos químicos causantes del aroma de la carne cruda, expuesta a una atmósfera modificada con alto porcentaje de oxígeno, mediante cromatografía de gases-olfatometría (GC-O).

Por último, se ha desarrollado un estudio comparativo de los efectos derivados del tiempo de exposición en el perfil del aroma de muestras de carne cruda, que habían sido empaquetadas bajo condiciones de atmósfera modificada y, posteriormente, expuestas durante periodos de tiempo distintos (0, 5 y 9 días) en una vitrina de venta al por menor con iluminación fluorescente.

3.- MATERIAL Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

3.1. MUESTRAS

Los seis especímenes de vacuno empleados para la obtención de las muestras eran jóvenes, de entre 12,8 y 13,9 meses, con un peso de 231 a 340 kg y un contenido de grasa intramuscular de entre 1,5 y 2,5%. Los animales fueron criados y alimentados en la misma granja con concentrados (a base de maíz, cebada y soja) y paja de cereales.

Después de sacrificarlos en un matadero comercial, siguiendo los procedimientos estándar, la carne sufre un proceso de maduración de 15 días (desde que se sacrifica hasta que la carne es fileteada y envasada) en la oscuridad a 3 ± 1 °C. Se extrajo la carne de babilla de cada animal y se obtuvieron filetes de 0,6 cm de grosor, que fueron asignados aleatoriamente para cada tiempo de exposición ante atmósfera modificada. Los filetes se colocaron individualmente en bandejas comerciales de polietileno en las que se introdujeron gases de calidad alimentaria (80% de oxígeno y 20% de dióxido de carbono) creando la atmósfera modificada en su interior, para inmediatamente después ser selladas con una película laminada de polietileno y poliamida.

Posteriormente, las bandejas se colocaron en una pantalla de venta al por menor simulada (Koxka, VIVI1-5; Pamplona, España), bajo luz (iluminación fluorescente blanca fresca, 1200 lux, 16h, Mazdafluor Aviva TF/36w, Philips, Eindhoven, Holanda), a $4\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ durante un tiempo de exposición de 0, 5 o 9 días.

Una fracción representativa de cada una de las muestras anteriormente señaladas fueron reservadas para la realización de un cultivo bacteriológico, con el objetivo de confirmar que en todos los casos la carne era comestible. El resto de la carne fue envasada a vacío.

Las muestras envasadas a vacío fueron enviadas al laboratorio ese mismo día y se procedió a su congelación hasta disponer del tiempo y personal necesarios para llevar a cabo su análisis sensorial.

3.2. MATERIALES

Este estudio requirió de múltiples reactivos y materiales para su realización, siendo de mayor relevancia los detallados a continuación:

- Resinas LiChrolut EN (copolímero de estireno / vinilbenceno) de Merck (Darmstadt, Alemania).
- Reservorios de polipropileno estándar para SPE con 0,8 cm de diámetro interno y 3 mL de volumen interno suministrados por Merck (Darmstadt, Alemania).
- Estación Vac Elut 20 proporcionada por Varian (Walnut Creek, CA).
- Diclorometano (GC, $\geq 99.8\%$) y metanol (GC, $\geq 99.8\%$) de Merck (Darmstadt, Alemania).
- Trituradora de alimentos marca Braun.
- Sistema de extracción en fase sólida con espacio de cabeza dinámico (DHS-SPE), diseñado en el laboratorio.
- Nitrógeno Air liquide. 99,8% Vol.
- Disolución control compuesta por los siguientes patrones químicos: Metional ($\geq 96\%$), fenilacetaldehído ($\geq 90\%$), metionol (98%), cinamato de etilo ($\geq 95\%$), furaneol ($\geq 98\%$), sotolon (97%), furfuriltiol (98%), vainillina (99%), butirato de etilo ($> 98\%$), ácido 3-metilbutírico (98%), 3-metilbutirato de etilo ($> 97\%$), linalool ($> 95\%$), β -damascenona ($\geq 96\%$) y butirato de hexilo ($> 98\%$); todos ellos proporcionados por las casas comerciales SAFC (Steinheim, Alemania), Fluka (Buchs, Suiza), Panreac (Barcelona, España), Lancaster (Strasbourg, Francia) y Firmenich (Ginebra, Suiza).

- Disolución estándar interno: butirato de hexilo (>98%, Sigma-Aldrich) en una concentración de 30 mg L⁻¹ en diclorometano (≥99.8%, Merck).
- Disolución de alcanos lineales C7 a C30 de 200 mg L⁻¹ en hexano preparada en el laboratorio a partir de los patrones comerciales.
- Disolución de Grob para control cromatográfico proporcionada por Sigma-Aldrich (kit 47304).

3.3. PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS

El primer paso para llevar a cabo la preparación de las muestras (aún envasadas al vacío) es proceder a su descongelación, dicho proceso se realiza a una temperatura de 4°C, en neveras libres de otros aromas, durante 36 h. Antes de su manipulación, las muestras se atemperan fuera de la nevera durante un periodo de 30 min.



***Fig. 1.** Muestras de carne (9 días) fuera del envase después del periodo de descongelación.*

Cuando la muestra de carne de vacuno a analizar (presentada en forma de filetes) está atemperada, procedemos a la extracción del músculo presente en dicha muestra. El músculo se trocea y se descartan las zonas muy grasas o con presencia de tejido conectivo. Tras este proceso, se obtienen unos 16-20 g de muestra por filete. Por lo tanto, habrá que emplear 2 filetes para poder obtener los 30 g de muestra totales, necesarios para el análisis. Una vez que disponemos de nuestro músculo limpio, éste es introducido en una picadora Braun, donde se pica a velocidad normal durante 3-6 segundos hasta alcanzar la consistencia deseada (intermedia entre puré y picada).

Caracterización química del aroma en muestras de carne de vacuno cruda: Variación del perfil aromático durante el almacenamiento y la exposición del producto.



Fig. 2. Muestra de carne picada en el interior de la picadora (5 días de exposición) y muestras ya picadas de carne con distintos periodos de exposición ante atmósfera modificada (0 días a la izquierda y 9 días a la derecha).

La carne picada obtenida se pesa sobre papel de plata y luego se introducen 30 ± 0.05 g de ésta en la boca de un sistema de purga y trampa diseñado específicamente para este análisis. La carne en el interior de la boca se dispone de manera que cubramos con ella la mayor proporción de superficie posible en el interior y evitando que se acumule carne en el fondo de la boca, ya que podría taponar el tubo de entrada de nuestro gas portador.

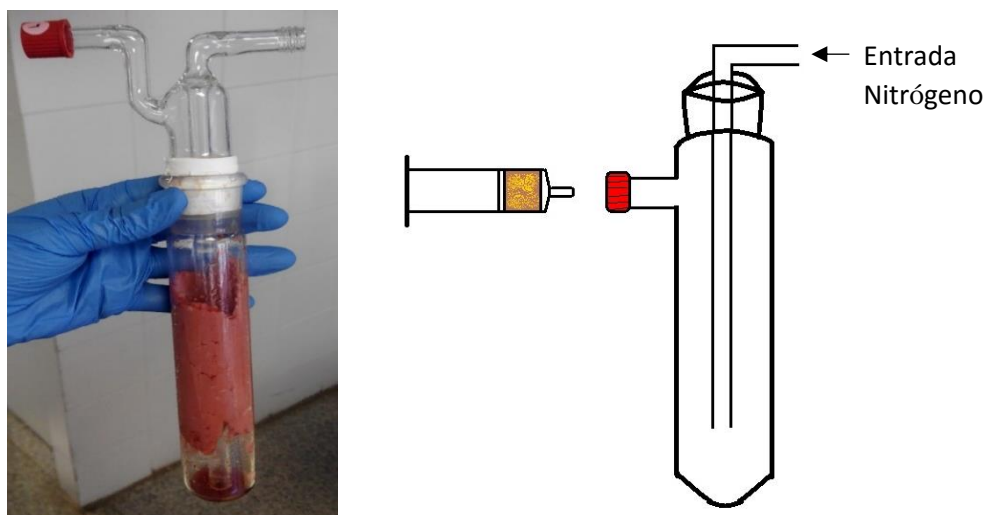


Fig. 3. Imagen y esquema del sistema de extracción DHS-SPE empleado en este estudio.

3.4. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE AROMAS MEDIANTE ESPACIO DE CABEZA DINÁMICO-EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (DHS-SPE)

En primer lugar, se prepara un cartucho con 400 mg de resinas LiChrolut EN, en el que quedarán retenidos los compuestos volátiles de las muestras objeto de estudio. Antes de ser utilizado, este cartucho se acondiciona con 20 mL de diclorometano y, posteriormente, es secado mediante vacío el tiempo necesario hasta que las resinas de su interior queden sueltas y retomen su coloración previa al acondicionamiento.

La boca preparada anteriormente y ya cerrada, en cuyo interior tenemos repartida la carne picada, se conecta a una línea de flujo de nitrógeno por su orificio de entrada y a un cartucho de resinas por la boquilla de salida. De esta manera, los compuestos volátiles son arrastrados por el nitrógeno a su paso por el interior de la cámara de la boca y recogidos en el cartucho colocado a la salida. Ajustamos el flujo de nitrógeno a 375 mL min^{-1} y con la ayuda de un medidor de caudal, que se acopla a la salida del cartucho de SPE, se regula la presión de entrada (manómetro de la botella). Dejamos pasar el nitrógeno a través de la boca durante 2 h y, una vez terminado dicho tiempo, se apaga el flujo de nitrógeno, se extrae el cartucho del sistema y se procede al secado de este último con una corriente de nitrógeno muy suave, para evitar pérdidas de algún componente retenido en el cartucho.

Una vez que tenemos seco el cartucho, se eluye con 3,2 mL de una disolución de diclorometano con un 5% de metanol y se recoge el eluato en un vial de color topacio. Dicho vial se guarda en un congelador libre de aromas hasta que vaya a ser usado.

Todo el procedimiento, desde la preparación de la muestra de análisis hasta la obtención del vial con los 3,2 mL de eluato, se repite por triplicado; de manera que, al final del proceso, disponemos de 3 viales con 3,2 mL de eluato en cada uno de ellos. Para continuar con el proceso, se adiciona a cada uno de los viales 40 μL de disolución de estándar interno (butirato de hexilo 30 mg L^{-1}), con una microjeringa específica para tal uso.

Cuando ya se ha adicionado el estándar interno al extracto, se procede a su concentración. Para dicha concentración, se introduce el contenido de los 3 viales en un matraz Kuderna graduado que dispone de una boca superior adicional acoplada para ampliar su capacidad. A continuación, se hace pasar una corriente de nitrógeno lo más suave posible sobre la superficie del extracto y, conforme pasa el tiempo, se va homogeneizando con una pipeta Pasteur el líquido para evitar una sobreconcentración superficial. El proceso continúa hasta que disponemos de 200 μL de extracto concentrado, momento en el cual éste puede ser recogido con una pipeta Pasteur y trasvasado a un vial de inserto de color topacio. Este vial será guardado en congelador hasta el momento de su utilización.

Todo este procedimiento es realizado por triplicado para obtener los extractos correspondientes a los 3 tipos de muestras de carne de las que disponemos (0, 5 y 9 días de exposición bajo atmósfera modificada con oxígeno).

3.5. CROMATOGRAFÍA DE GASES - OLFATOMETRÍA (GC-O)

El análisis de los aromas presentes en el extracto preparado anteriormente se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases Varian de la serie Thermo 8000 equipado con un detector de ionización de llama (FID) y un orificio de aspiración (ODO-I de SGE) conectado por un divisor de flujo a la salida de la columna. La columna utilizada fue una DB-WAX de J&W (Folsom) 30 m x 0,32 mm x 0,5 μm , precedida por una precolumna de sílice Supelco, 3 m x 0.32 mm. El gas portador era hidrógeno a 3 mL min^{-1} .

Se inyectó 1 μL de cada extracto en modo inyección “Splitless” (sin división de flujo). El inyector y el detector se mantuvieron ambos a 250°C y el programa de temperaturas fue: 40°C durante 5 min, un aumento de 4°C min^{-1} hasta 100°C y un posterior aumento a 6°C min^{-1} hasta 220°C, manteniéndose esta última temperatura durante 10 min. Para evitar la condensación de compuestos de alto punto de ebullición en el orificio de inhalación, éste se calentó usando una resistencia conectada a un reostato de laboratorio.

Los análisis olfatométricos fueron llevados a cabo por un conjunto de personas que denominamos “panel”. Dicho panel estuvo compuesto por seis expertos catadores con experiencia en análisis olfatométrico (“sniffers” o panelistas), 3 mujeres y 3 hombres, con edades comprendidas entre los 22 y los 40 años. El tiempo total de inhalación fue de aproximadamente 40 minutos, siendo dividido entre 2 de los “sniffers”, de tal manera que uno realice la detección durante la primera mitad (20 minutos) y el otro durante la mitad restante. Posteriormente, y durante un nuevo análisis olfatométrico del mismo extracto, se invirtió el orden de inhalación de las parejas. De esta forma, al finalizar todos los análisis olfatométricos, cada extracto fue olido una vez en su totalidad (primera mitad y luego la segunda) por cada uno de los “sniffers”. Esta particular organización de las personas que componen el panel durante el análisis olfatométrico se lleva a cabo con el fin de evitar su fatiga. Se pidió a los panelistas que describieran cada uno de los aromas detectados, indicando su tiempo de salida del cromatógrafo (junto con la duración), y que puntuaran la intensidad de cada estímulo aromático usando una escala de 7 puntos (0 = no detectado, 0.5 = muy débil, 1 = débil, 1.5 = claro, 2 = muy claro, 2.5 = intenso, 3 = muy intenso).

Para identificar la jerarquía del aroma, se calculó su frecuencia modificada (MF, en porcentaje) con la fórmula: $FM (\%) = \sqrt{F (\%) \times I (\%)}$ ⁸, donde F es la frecuencia de detección del atributo aromático expresado como porcentaje e I es la intensidad promedio expresada también en porcentaje. Con esta información se puede jerarquizar los odorantes en función de su importancia aromática, centrando la atención en aquellos compuestos cuya FM sea superior al 30%. Los compuestos odorantes se identificaron comparando sus olores, índices de retención en las columnas DB-WAX (IK-polar) y DB-5 (IK-apolar) y

sus espectros de masas (MS) con los de los compuestos de referencia disponibles en la biblioteca NIST.

3.6. CROMATOGRAFÍA DE GASES - ESPECTROMETRÍA DE MASAS (GC-MS)

Después del procedimiento anterior, se inyectaron 2 μL de cada extracto en un cromatógrafo de gases Shimadzu QP-2010 con un sistema de detección de espectrometría de masas cuadrupolar, en modo "Splitless" (sin división de flujo). La temperatura del inyector fue de 250°C, y se aplicó un pulso de presión de 467 KPa durante 1,5 min (con un flujo de columna de 2,69 mL min⁻¹).

El gas portador era He a una velocidad lineal constante de 35 cm s⁻¹. La columna era una columna capilar DB-5 de J&W (Folsom, 20 m x 0,18 mm x 0,18 m), precedido por una precolumna de sílice de Supelco (Bellefonte, 3 m x 0,25 mm). El horno cromatográfico se mantuvo a 45°C durante 2 min, luego se elevó a 200°C a una velocidad de 10°C min⁻¹ y, finalmente, a 25°C min⁻¹ hasta 280°C durante 3 min.

La temperatura de la fuente de iones fue de 220°C y la línea de transferencia se mantuvo a 250°C. La adquisición de datos se registró en el modo de barrido (rango de masas de m/z 25-250), a 0,5 barridos por segundo. Los datos obtenidos del MS se registraron y procesaron con el software Workstation 6.30 equipado con la biblioteca NIST MS (NIST, Gaithersburg, MD).

3.7. AISLAMIENTO DE COMPUESTOS MEDIANTE GC-O-GC-O-MS

Para confirmar algunos compuestos es necesario su aislamiento para un posterior análisis más selectivo. Todos los análisis de fracciones cromatográficas se realizaron utilizando un cromatógrafo de gases multidimensional de Varian (Walnut Creek, CA), constituido por dos cromatógrafos de gases independientes, interconectados entre sí mediante una línea de transferencia mantenida a 200 grados.

El primer cromatógrafo es un Varian CP3800 equipado con un inyector 1079 PTV (Programmable Temperature Vaporisation), un sistema de detección de ionización de llama (FID) y un puerto olfatométrico (ODO-II de SGE, Ringwood, Australia), ambos conectados por un divisor de flujo a la salida de la columna, de manera que se posibilita el control simultáneo de FID y del efluente de la primera columna. Este GC está equipado con una válvula de conmutación accionada por presión Deans (Valco Instruments, Houston, TX), que permite la transferencia selectiva de cortes cromatográficos eluyendo desde la primera columna directamente sobre la columna analítica colocada en el segundo cromatógrafo. El gas portador (hidrógeno) se suministró a una presión constante de 30 psi. La columna era un DB-WAX de J&W (Folsom), 30 m x 0,32 mm. con un espesor de película de 0,50 μm . Se empleó una columna de sílice fundida sin recubrir y desactivada de Supelco como interfaz entre la válvula de conmutación Deans y los detectores FID y ODO. El programa de temperatura del horno fue de 40°C durante 4 min, se elevó a 7°C

min^{-1} hasta 220°C y se mantuvo a esta temperatura durante 15 min. El FID se mantuvo en 300°C ³.

El segundo cromatógrafo que está acoplado al primero es también un Varian CP3800 acoplado a un espectrómetro de masas de trampa de iones como detector (Saturn, 2000). El sistema está equipado con una unidad de criofocalización de CO_2 líquido y un puerto olfatómico (ODO-II de SGE) al final de la columna, de manera que era posible la olfatometría simultánea y la adquisición del MS. La columna era una Factor Four VF-5MS de Varian ($30\text{ m} \times 32\text{ mm} \times 1\text{ }\mu\text{m}$). La columna se conectó directamente a la válvula Deans situada en el primer cromatógrafo a través de la línea de transferencia termostaticada. Los primeros centímetros de la columna en el segundo GC cruzan la unidad de criocondensación y el extremo de la columna se une a un divisor conectado a ambos detectores de MS y ODO. Dos minutos después de cortar el cromatograma, se eliminó el flujo de CO_2 al mismo tiempo que se activó el programa de temperaturas del segundo horno (primero a 50°C , luego se elevó a $4^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta 200°C , a $100^{\circ}\text{C min}^{-1}$ hasta 300°C y finalmente esta temperatura se mantuvo durante 10 min). Los parámetros MS fueron: línea de transferencia a 170°C , trampa de iones a 150°C y corriente de emisión de trampa $30\text{ }\mu\text{A}$. La adquisición de datos se registró en el modo de barrido (rango de masas de m/z 25-250), a 0,5 barridos por segundo. Los datos FID y MS se registraron y procesaron con el software Workstation 6.30 equipado con la biblioteca NIST MS (NIST, Gaithersburg, MD) ³.

Se inyectaron $10\text{ }\mu\text{L}$ de los extractos concentrados preparados con anterioridad empleando el modo de inyección de grandes volúmenes típico del inyector PTV. La temperatura inicial del inyector era 40°C . La válvula de división se cerró después de 0,4 min de evaporación del disolvente y el inyector se calentó entonces hasta 250°C . Al cabo de 3 min se abrió de nuevo la válvula de división.

Los $10\text{ }\mu\text{L}$ de los 3 extractos objeto de estudio se monitorizaron primero por GC-O en el primer cromatógrafo para poder localizar los odorantes deseados que antes se habían considerado importantes. Posteriormente, se realizaron cortes selectivos del cromatograma para aislar los odorantes de interés, que se transfirieron al segundo horno y se monitorizaron por olfatometría con detección simultánea de MS. La identidad de los odorantes se determinó a través de los espectros de masas y de los índices de retención lineales en ambas columnas.

4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. OPTIMIZACIÓN

Como se ha comentado anteriormente, el primer objetivo de este estudio era la optimización del procedimiento de extracción de las fracciones aromáticas de cada una de las muestras de carne cruda de vacuno. Este proceso era necesario ya que, la mayoría de estudios y ensayos previos de extracción del aroma en carne de vacuno están llevados

a cabo sobre muestras de carne de vacuno cocinada, cuyo aroma es notablemente más intenso que el correspondiente a la carne cruda, facilitando su extracción en comparación con ésta última.

El proceso de optimización se basó, principalmente, en la adaptación del sistema de purga y trampa establecido por el laboratorio para muestras de carne cocinada con el fin de que éste pudiese ser viable en su empleo en muestras crudas.

Para ello, primero fue necesario encontrar un tamaño y una forma adecuada para la boca del sistema de purga y trampa, que nos permitiese la mayor extracción posible de los componentes aromáticos presentes en la carne. Se eligió para ello una boca alargada y lo suficientemente ancha como para que los 30 g de carne picada necesarios para el análisis quedasen distribuidos ocupando casi la totalidad de la superficie interna de la boca. De esta forma, al pasar posteriormente el gas portador por su interior, se dispone de una mayor superficie de arrastre de los aromas de la carne cruda.

Posteriormente, se procedió a la optimización del tiempo de purga y trampa; para ello, se colocaron dos cartuchos con resina (de las mismas dimensiones) en serie a la salida de la boca. El primer cartucho se mantuvo fijo durante todo el proceso (300 min) y el segundo cartucho se cambió a los 100, 200 y 300 min. Una vez finalizado el tiempo de extracción, se procedió a la obtención de los extractos concentrados siguiendo el procedimiento que se ha detallado con anterioridad. Dos “sniffers” pertenecientes al panel seleccionado para este estudio realizaron las olfatometrías de estos 4 extractos. Con el primer cartucho (más cercano al sistema) se pretendían obtener intensidades olfativas (medidas como % FMs) lo suficientemente elevadas (entre 14-80 %) como para considerar viable el procedimiento; y con los siguientes 3 cartuchos se pretendía comprobar si en algún momento se llega a superar el volumen de ruptura, dando lugar a pérdidas de los compuestos volátiles objeto de interés.

Tras llevar a cabo este proceso, realizar las olfatometrías correspondientes y observar los datos obtenidos, se llegó a la conclusión de que en ningún momento se había sobrepasado el volumen de ruptura, puesto que no se detectó olfativamente ningún compuesto en ninguno de los 3 cartuchos analizados para este fin. Además de ello, el análisis olfatométrico que se obtuvo del primer cartucho no cumplía con los requisitos necesarios, pues se obtuvieron valores para la FM% inferiores al 9% para los compuestos detectados.

Es por todo ello que, tras analizar los resultados y el procedimiento llevado a cabo para obtenerlos, se llegó a la conclusión de que el problema no se encontraba en el tiempo de exposición ante el gas portador sino en la baja intensidad del aroma emitido por la carne cruda. Teniendo en cuenta este hecho, se modificó el sistema, no alargando el tiempo de exposición sino realizando varios procesos de extracción (3 en nuestro caso) empleando carne de vacuno perteneciente a distintos animales procedentes de la misma

ganadería (mismas condiciones de cría) y al mismo número de días de exposición ante atmósfera modificada; para posteriormente, mezclar los extractos derivados de ellos y obtener una muestra más concentrada. El correcto funcionamiento de este nuevo procedimiento se pudo comprobar también mediante olfatometría, obteniéndose en este caso los resultados óptimos (FM% superiores al 60%) necesarios para proseguir con el análisis.

En la Figura 4 puede observarse un cromatograma GC-FID correspondiente al extracto de la carne expuesta ante atmósfera modificada durante 9 días, obtenido mediante la técnica ya optimizada expuesta en este apartado.

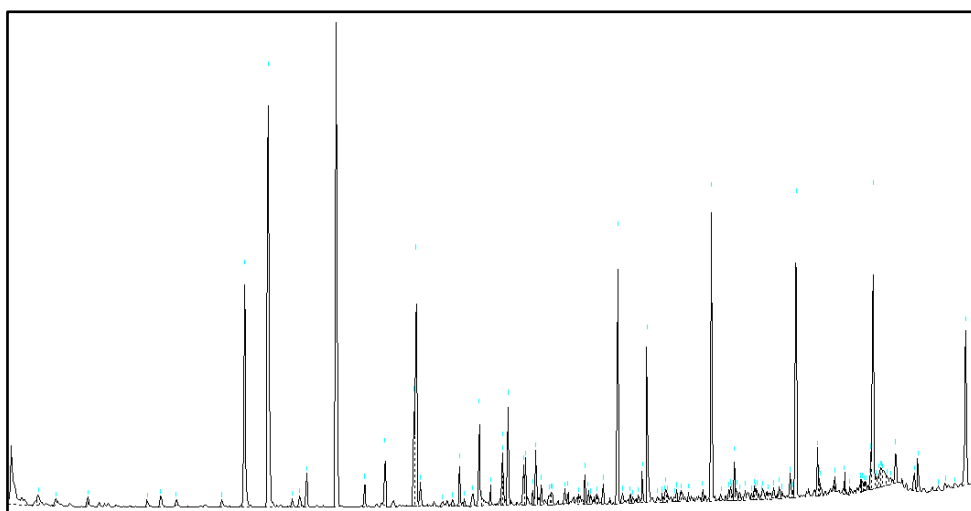


Fig. 4. Cromatograma GC-FID correspondiente al extracto de la muestra de carne de 9 días.

4.2. ESTUDIO DE MUESTRAS DE CARNE CRUDA DERIVADAS DE LA EXPOSICIÓN ANTE ATMÓSFERA MODIFICADA CON OXÍGENO

En este apartado se presentan los correspondientes resultados obtenidos tras el análisis de la fracción aromática de las diferentes muestras de carne, cada una de ellas con distinto tiempo de exposición ante una atmósfera modificada con oxígeno (0, 5 y 9 días de exposición).

En la tabla 1 se presentan los compuestos volátiles detectados en cada una de las muestras, agrupados según su naturaleza química, además de mostrar el índice de retención lineal (LRI) para DB-WAX y DB-5, junto con las descripciones aromáticas determinadas para cada compuesto y la frecuencia modificada (en porcentaje) para cada uno de ellos.

Tabla 1. Compuestos químicos principales del perfil aromático de las muestras de carne analizadas.

Identidad química COMPUESTO	LRI		Aroma DESCRIPCIÓN DEL AROMA	FM%		
	DB-WAX	DB-5		0 días	5 días	9 días
CETONAS ALIFÁTICAS						
Butan-2,3-diona (diacetilo) ^a	980-986		Fresa + nata, mantequilla, carne cruda	43	75	97
3-Hidroxibutan-2-ona ^b	1291	722	Carne cruda, mantequilla, láctico	26	45	62
1-Octen-3-ona ^b	1309	979	Champiñón, humedad	33	65	90
2-Acetil-2-tiazolina ^b	1773	1113	Quemado, frito, tostado, basura, papel mojado			45
ALDEHÍDOS ALIFÁTICOS						
Octanal ^b	1296	1006	Geranio, anisado, verde, floral	33	24	17
(E)-2-Octenal ^b	1414	1065	Champiñón, rancio, ácido graso	7	17	38
Nonanal ^b	1453	1103	Mantequilla, animal, carne cruda, láctico	36	37	59
(Z)-2-Nonenal ^b	1514	1151	Plástico, geranio, verde, aceite	68	83	85
(E)-2-Nonenal ^b	1546	1166	Humedad, cartón, fruto seco, madera seca	56	61	66
(Z)-2-Decenal ^b	1622	1255	Plástico, geranio, cloro, aceite	87	76	75
4-Metilbenzaldehído ^b	1637	1094	Pelo quemado, tostado	12	51	53
Fenilacetaldehído ^b	1653	1056	Floral, miel, dulce		17	61
(E)-2-Undecenal ^b	1766	1351	Cilantro, aceite, grasa, cítrico	24	41	67

Tabla 1. (Continuación).

Identidad química COMPUESTO	LRI		Aroma	FM%		
	DB-WAX	DB-5	DESCRIPCIÓN DEL AROMA	0 días	5 días	9 días
ÁCIDOS CARBOXÍLICOS						
Ácido acético ^c	1465		Vinagre			37
Ácido butírico ^d	1645	847	Carne, queso, desagradable	39	29	59
Ácido valérico ^b	1712	875	Masa, grasa, aldehído	10	39	39
Ácido hexanoico ^d	1823	1326	Aldehído, grasa, aceite, plástico, papel	35	49	47
Ácido octanoico ^d	2098	1160	Sudor, mal aliento, rancio, basura	10	39	47
ALCOHOLES ALIFÁTICOS						
1- Hexanol ^c	1370		Verde, plástico			31
1-Octen-3-ol ^d	1468	985	Champiñón, grasa- carne		61	74
2,6-Dimetil-2,7- octadien-6-ol (linalool) ^b	1551	1099	Cloro, geranio, floral		15	31
(E,Z)-2,6- Nonadien-1-ol ^b	1783	1131	Grasa, aldehído, verde, disolvente		17	51
ALCOHOLES AROMÁTICOS						
2,6-Di-Terc-Butil- 4-Metilfenol ^d	1912	1505	Papel, químico, cartón	26	19	31
HIDROCARBUROS ALIFÁTICOS SIMPLES						
(Z)-3-Dodeceno ^b	1254	1194	Verdura cocida, plástico, polvo, terroso, hongo	71	55	65
COMPUESTOS NO IDENTIFICADOS						
n.i.	1649		Plástico, dulce, medicinal			41
n.i.	1678		Almendra, pipas, tierra, humedad			33
n.i.	2022		Metálico, papel, tostado, humedad	26	29	22
^a Identificación mediante correspondencia de aroma y LRI (DB-WAX) ^b Identificación mediante correspondencia de aroma, LRI (DB-WAX) y LRI (DB-5). ^c Identificación mediante correspondencia de aroma, LRI (DB-WAX) y MS. ^d Identificación mediante correspondencia de aroma, LRI (DB-WAX), LRI (DB-5) y MS						

Caracterización química del aroma en muestras de carne de vacuno cruda: Variación del perfil aromático durante el almacenamiento y la exposición del producto.

Como se puede apreciar en la tabla 1, se han identificado un total de 27 compuestos volátiles pertenecientes a las familias de: cetonas alifáticas, aldehídos alifáticos, ácidos carboxílicos, alcoholes alifáticos y aromáticos, e hidrocarburos aromáticos simples (alcanos, alquenos y alquinos). Cada uno de los compuestos reflejados en la tabla han sido identificados en función de unos parámetros determinados (aroma, índice de retención lineal y espectro de masas) que quedan reflejados en los correspondientes superíndices indicados al lado de cada uno de ellos en la citada tabla. Además, se ha realizado una comparación de los resultados obtenidos en estudios anteriores similares con el fin de comprobar la concordancia de los datos obtenidos. En las figuras 5 y 6 se muestran como ejemplo el pico cromatográfico y los espectros de masas de uno de los compuestos identificados (1-Octen-3-ol).

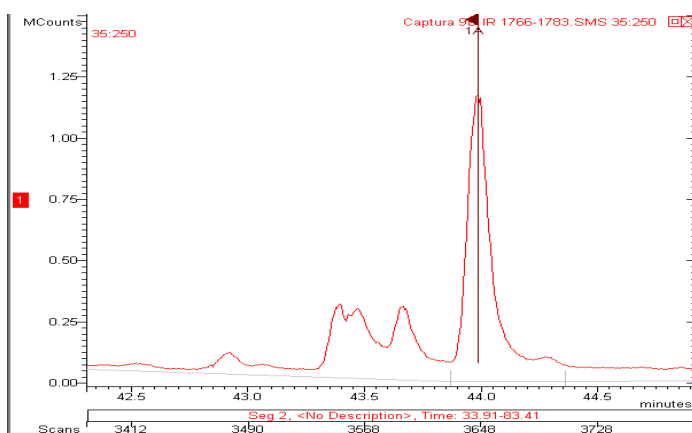


Fig. 5. Pico cromatográfico correspondiente al compuesto con IR 1468 identificado por GC-O-GC-O-MS.

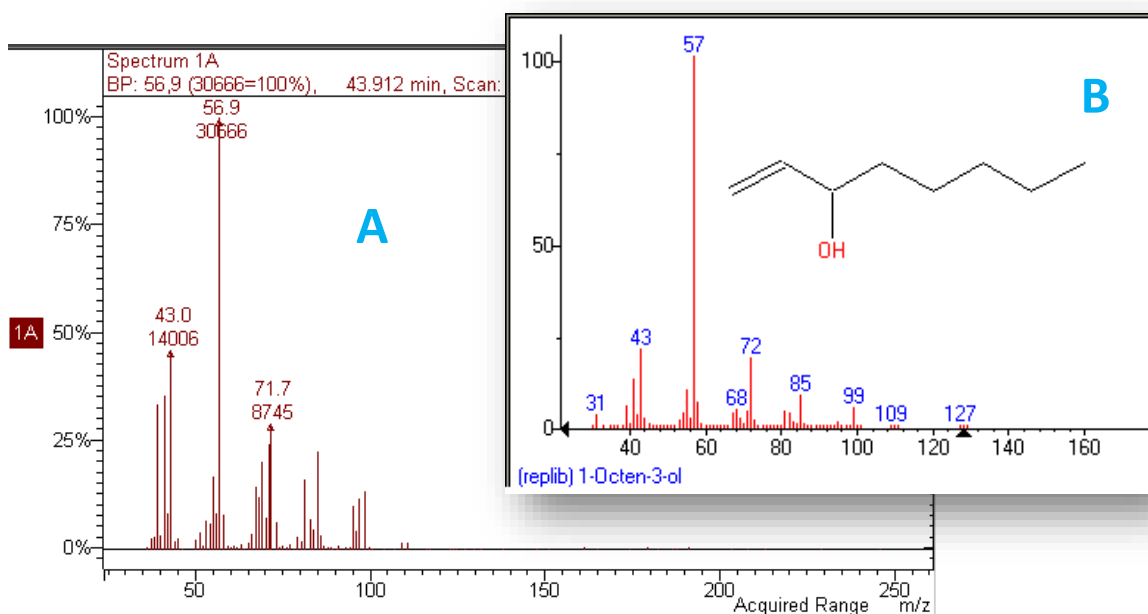


Fig. 6. Espectros de masas: A, espectro obtenido en la muestra para el compuesto con IR 1468; B, espectro de referencia del NIST correspondiente al 1-Octen-3-ol.

De entre los compuestos que podemos encontrar en la carne de vacuno, los lípidos (intramusculares, triglicéridos y fosfolípidos) están directamente implicados en el desarrollo del aroma de la carne ²³. Los fosfolípidos tienen una mayor proporción de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de cadena larga y, por lo tanto, se oxidan más fácilmente que los triglicéridos. También son relativamente constantes en cantidad, ya que en las carnes grasas se produce un aumento de triglicéridos en los adipocitos, mientras que la grasa de las membranas celulares en forma de fosfolípidos (con mayor cantidad de AGPI) permanece constante. Estos AGPI son compuestos lipídicos precursores del aroma. De su degradación por fenómenos oxidativos se generan compuestos volátiles implicados en el aroma de la carne ¹⁰. Los compuestos volátiles derivados de los lípidos comprenden aldehídos alifáticos, alcoholes, ácidos carboxílicos, ésteres, hidrocarburos simples y cetonas, todos ellos con cadenas alquilo lineales que contienen cinco o más átomos de carbono ⁹.

La mayoría de las cetonas aromáticas causantes de parte del aroma de la carne tienen su origen en los procesos de oxidación de estos ácidos grasos poliinsaturados y de su degradación aminoacídica. Por tanto, es lógico pensar que la mayoría de las cetonas obtenidas en nuestro estudio derivarían de estos procesos, siendo, además la butan-2,3-diona un componente muy común en el perfil aromático tanto de carnes de ternera crudas como cocinadas, que aporta un intenso matiz dulce como mantequilloso al aroma global de la carne.

En este caso, y en la mayoría de estudios anteriores, los aldehídos alifáticos son los compuestos obtenidos de manera mayoritaria en el perfil aromático; siendo, nonanal, hexanal, fenilacetaldehído, y octanal los más comúnmente encontrados en muestras de carne. Todos ellos, a excepción del hexanal, han sido localizados en las muestras del presente estudio, como podemos apreciar en la tabla 1.

Los alcoholes alifáticos son también un grupo importante de compuestos derivados de la oxidación lipídica de los ácidos grasos, entre ellos el 1-octen-3-ol y el 1-hexanol son los compuestos más relevantes de este grupo, en cuanto a perfil aromático se refiere (ambos presentes en las muestras de carne analizadas).

En cuanto a los ácidos carboxílicos y sus derivados, los más relevantes en el perfil aromático de la carne son furaneol, ácido butanoico y ácido acético. Como podemos observar en la tabla 1, dos de estos componentes estaban presentes en las muestras de carne analizadas. Estos compuestos son también derivados de procesos de oxidación.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente citado, es de esperar que conforme aumenta el tiempo de exposición de las muestras de carne ante una atmósfera modificada con oxígeno, aumente también el número de reacciones de oxidación lipídica y, por tanto, se eleve la cantidad de los compuestos anteriormente nombrados y se incremente su intensidad aromática dentro del perfil de las muestras.

Otra justificación de este hecho reside en la dependencia que existe entre las reacciones de oxidación lipídicas en el músculo de la carne y la cantidad e interacción

con iniciadores de la cadena de oxidación, como es el oxígeno. Dentro de la cadena de oxidación, la reducción del oxígeno por un electrón rinde diversos compuestos: un radical anión superóxido (O^{2-}), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y un radical hidroxilo (OH^\cdot), los cuales participan en la cadena de oxidación de la grasa y de pigmentos musculares (como la hemoglobina y mioglobina). El radical superóxido puede ser producto de varias reacciones tales como la oxidación de la oximioglobina hasta metamioglobina. En condiciones ácidas, el radical superóxido puede ser protonado a un radical peroxil que es el agente oxidante más potente, siendo capaz de penetrar la bicapa de membrana lipídica con mayor facilidad que otros agentes pro-oxidantes^{13, 16, 7, 2}. Es este uno de los motivos por los que, además del aumento de compuestos derivados de la oxidación lipídica en las muestras al aumentar su tiempo de exposición, también se puede observar un cambio de color en la carne desde rojo (0 días) hasta marrón oscuro (9 días).

Además de todo esto, hay que tener en cuenta que nuestras muestras se han mantenido iluminadas con luz fluorescente (catalizador de las reacciones de oxidación lipídicas por medio de la generación de radicales libres y moléculas activadas) durante su periodo de exposición. Por tanto, es lógico pensar que dicha iluminación favorecerá los procesos de oxidación lipídica anteriormente comentados, aumentando el número de compuestos de aroma desagradable con el paso del tiempo.

Para comprender en profundidad los datos obtenidos, se realizó un estudio de las intensidades medias aromáticas obtenidas para cada uno de los compuestos presentes en el perfil aromático de las muestras; además, se compararon las muestras sometidas a distintos tiempos de exposición ante atmósfera modificada. Es esta diferencia en cuanto al tiempo de exposición la que se espera que genere las diferencias olfatométricas observadas, causadas principalmente por reacciones con el oxígeno favorecidas por la luz durante la exposición.

En la tabla 2 se han reflejado los valores de las intensidades medias atribuidas por los panelistas a cada uno de los compuestos percibidos, que pueden variar entre 0 y 3, siendo 0 un valor equivalente a “no percibido” y 3 “muy intenso”. Además, en la misma tabla, se han introducido los valores correspondientes al intervalo de confianza obtenido para cada uno de los valores de intensidad media. Dichos valores del intervalo de confianza han sido calculados dividiendo la desviación estándar de los valores de intensidad atribuidos por los panelistas al aroma del cual pretendemos averiguar el intervalo (σ_I), entre el valor de la raíz de 6, que es el número de panelistas (“Sniffers”) que huelen cada muestra y, por tanto, cada compuesto:

$$\text{Intervalo de confianza} = \frac{\sigma_I}{\sqrt{6}}$$

Tabla 2. Valores de intensidad media del aroma asignado a cada compuesto obtenido e intervalo de confianza para dicha intensidad.

Número por orden de aparición	Identidad química	Intensidad media del aroma		
		0 días	5 días	9 días
1	Butan-2,3-diona (diacetilo)	0,83 ± 0,31	1,33 ± 0,36	2,83 ± 0,11
2	(Z)-3-Dodeceno	1,50 ± 0,22	1,08 ± 0,35	1,50 ± 0,41
3	3-Hidroxiбутан-2-ona	0,42 ± 0,24	0,92 ± 0,35	1,75 ± 0,56
4	Octanal	0,67 ± 0,36	0,50 ± 0,34	0,25 ± 0,17
5	1-Octen-3-ona	0,50 ± 0,18	1,50 ± 0,34	2,42 ± 0,20
6	1- Hexanol	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,58 ± 0,27
7	(E)-2-Octenal	0,08 ± 0,08	0,25 ± 0,17	0,67 ± 0,31
8	Nonanal	0,58 ± 0,20	0,83 ± 0,46	1,25 ± 0,34
9	Ácido acético	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,83 ± 0,38
10	1-Octen-3-ol	0,00 ± 0,00	1,33 ± 0,31	1,67 ± 0,31
11	(Z)-2-Nonenal	1,67 ± 0,33	2,08 ± 0,24	2,17 ± 0,21
12	(E)-2-Nonenal	1,42 ± 0,45	1,33 ± 0,36	1,58 ± 0,37
13	2,6-Dimetil-2,7-octadien-6-ol (linalool)	0,00 ± 0,00	0,42 ± 0,42	0,58 ± 0,33
14	(Z)-2-Decenal	2,25 ± 0,17	1,75 ± 0,17	1,67 ± 0,21
15	4-Metilbenzaldehído	0,25 ± 0,25	1,17 ± 0,40	1,25 ± 0,40
16	Ácido butírico	0,92 ± 0,49	0,50 ± 0,26	1,25 ± 0,31
17	n.i. + 1649	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,75 ± 0,31
18	Fenil acetaldehído	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,17	1,33 ± 0,33
19	n.i. + 1678	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,67 ± 0,31
20	Ácido valérico	0,17 ± 0,17	0,92 ± 0,49	0,92 ± 0,42
21	(E)-2-Undecenal	0,50 ± 0,32	0,75 ± 0,25	1,33 ± 0,28
22	2-Acetil-2-tiazolina	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,92 ± 0,33
23	(E, Z)-2,6-Nonadien-1-ol	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,17	1,17 ± 0,49
24	Ácido hexanoico	0,75 ± 0,36	1,08 ± 0,42	1,00 ± 0,39
25	2,6-Di-Terc-Butil-4-Metilfenol	0,42 ± 0,20	0,33 ± 0,25	0,58 ± 0,27
26	n.i. + 2022	0,42 ± 0,24	0,50 ± 0,22	0,42 ± 0,27
27	Ácido octanoico	0,17 ± 0,17	0,92 ± 0,44	1,00 ± 0,34

Caracterización química del aroma en muestras de carne de vacuno cruda: Variación del perfil aromático durante el almacenamiento y la exposición del producto.

En las figuras 7, 8, 9, 10 y 11 se ha realizado la representación de los valores de intensidad media para los compuestos de las diferentes familias obtenidos para las muestras con distintos tiempos de exposición analizadas (0, 5 y 9 días).

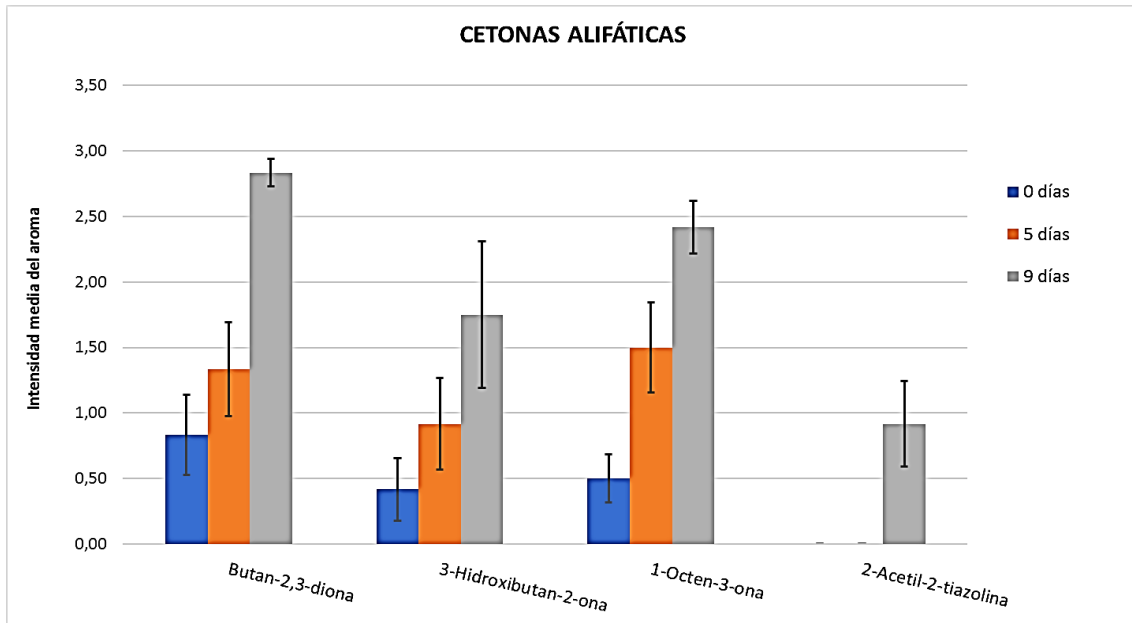


Fig. 7. Gráfica comparativa de intensidades medias e intervalos de confianza del aroma correspondiente a las cetonas alifáticas encontradas en las distintas muestras.

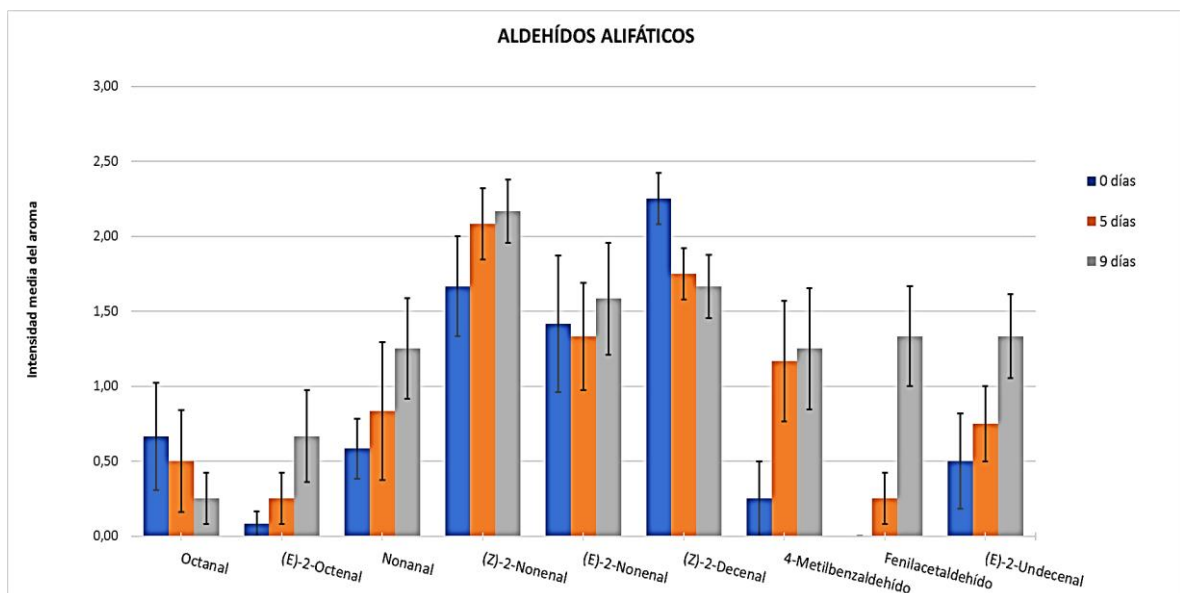


Fig. 8. Gráfica comparativa de intensidades medias e intervalos de confianza del aroma correspondiente a aldehídos alifáticos encontradas en las distintas muestras.

Caracterización química del aroma en muestras de carne de vacuno cruda: Variación del perfil aromático durante el almacenamiento y la exposición del producto.

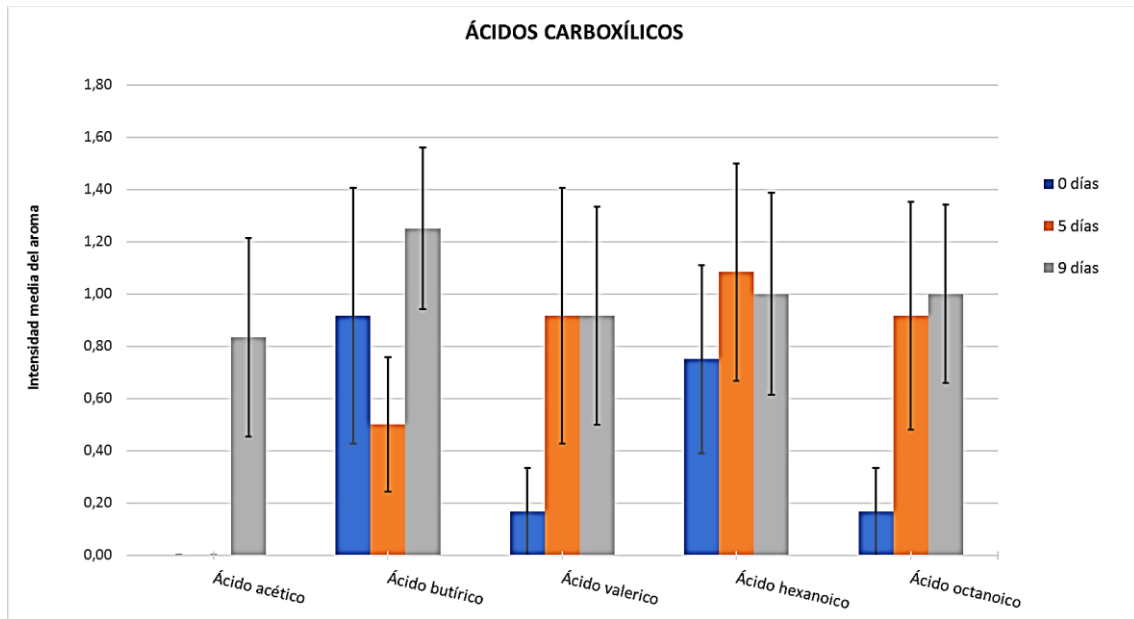


Fig. 9. Gráfica comparativa de intensidades medias e intervalos de confianza del aroma correspondiente a ácidos carboxílicos encontrados en las distintas muestras.

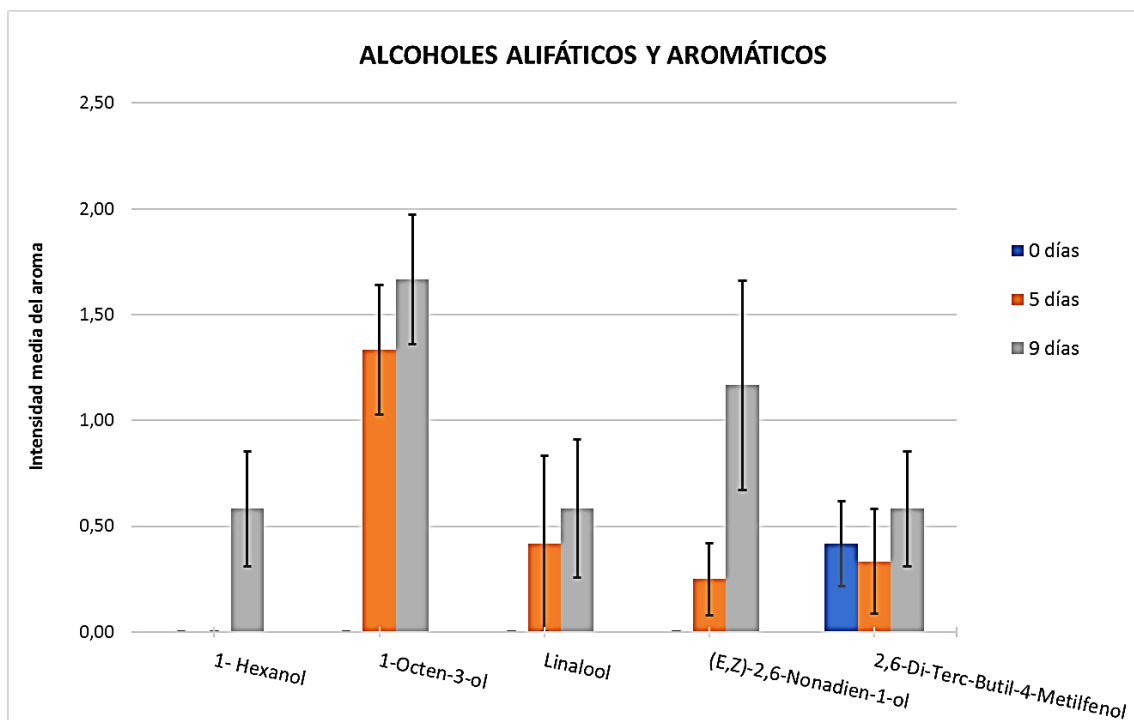


Fig. 10. Gráfica comparativa de intensidades medias e intervalos de confianza del aroma correspondiente a alcoholes encontrados en las distintas muestras.

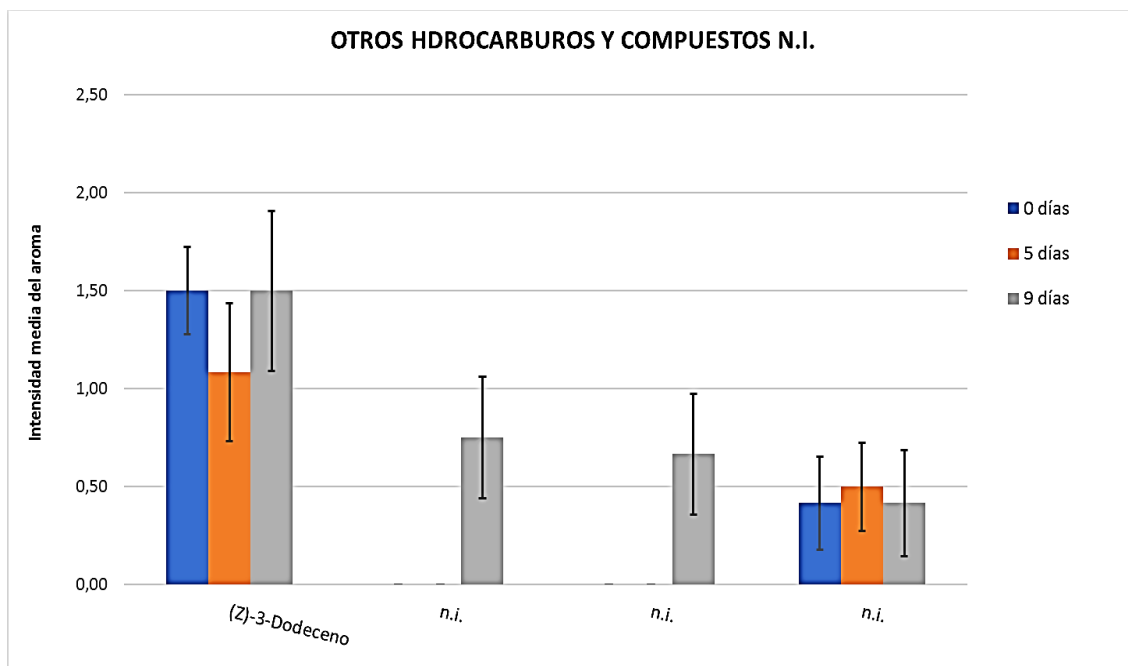


Fig. 11. Gráfica comparativa de intensidades medias e intervalos de confianza del aroma correspondiente a hidrocarburos no pertenecientes a los grupos anteriores y a compuestos no identificados que han sido encontrados en las distintas muestras.

Como se puede apreciar, las premisas anteriormente expuestas se cumplen ya que tanto el grupo de las cetonas alifáticas, los aldehídos alifáticos, los alcoholes como los ácidos carboxílicos aumentan su intensidad progresivamente desde la carne con 0 días de exposición hasta la carne con 9 días. Esto quiere decir, que las notas aromáticas aportadas por cada uno de estos compuestos se irán haciendo más intensas y, por tanto, más evidentes en el perfil aromático global de la carne al aumentar este tiempo de exposición.

No obstante, se pueden apreciar varias excepciones. El octanal y el (Z)-2-decenal disminuyen su intensidad al aumentar el número de días de exposición, por lo que su participación en el aroma irá disminuyendo y encontraremos menos notas verdes, florales y plásticas en el perfil aromático global.

Algunos de los compuestos estudiados no sufren apenas variación con el paso del tiempo de exposición, como, por ejemplo, (Z)-3-dodeceno, (E)-2-nonenal y el compuesto número 26 (no identificado y con índice de retención 2022). A la hora de establecer un compuesto indicador del aumento del nivel de oxidación de la carne y, por tanto, de su degradación e inviabilidad para su ingesta o comercialización, estos compuestos no serían buenas elecciones puesto que permanecen casi inalterados con el aumento del tiempo de exposición o su variación es casi imperceptible.

También podemos observar como en alguno de los casos, la tendencia del compuesto con el paso del tiempo no es uniforme como, por ejemplo, para (Z)-3-

dodeceno, (E)-2-nonenal, ácido butírico, ácido hexanoico, 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol y el compuesto 26 (no identificado y con índice de retención 2022). Esto puede deberse a un exceso en la volatilización de dicho compuesto en alguna de las muestras obtenidas, a una mala retención en las resinas de extracción durante la purga y trampa, o a posibles variaciones de la presencia de estos compuestos en las distintas partes de la carne presente en las muestras.

5. CONCLUSIONES

Tras el análisis de las muestras y el procesamiento de datos llevados a cabo para el desarrollo de esta memoria podemos concluir que:

- La optimización del proceso de extracción del aroma ha sido satisfactoria, pues se ha facilitado y mejorado la obtención de extractos aromáticos representativos de las muestras de carne cruda, viables para su posterior análisis mediante técnicas instrumentales tales como la cromatografía de gases – olfatometría (GC-O).
- Se han podido aislar e identificar con éxito los principales compuestos químicos causantes del aroma de la carne cruda expuesta a una atmósfera modificada con alto porcentaje de oxígeno junto con iluminación fluorescente. Además, se ha podido comprobar cómo un aumento en el tiempo de exposición de las muestras ante dicha atmósfera modificada genera un aumento en el número de compuestos con aroma desagradable, que son indicadores de la pérdida de calidad en la carne, siendo los siguientes los de mayor intensidad: Butan-2,3-diona (fresa + nata, mantequilla, carne cruda), 1-Octen-3-ona (champiñón, humedad), (Z)-2-Nonenal (plástico, geranio, verde, aceite), Z-2-Decenal (plástico, geranio, cloro, aceite), 1-Octen-3-ol (champiñón, grasa-carne) y 3-Hidroxibutan-2-ona (carne cruda, mantequilla, láctico). Este aumento de dichos compuestos puede provocar un rechazo, por parte del consumidor, del producto ofertado.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ L.W. Aurand, N.H. Boone, G.G. Giddings, *J. Dairy Sci.* 1977, 60 (3), 363-369.
- ² J. Buege, S. Aust, *Methods Enzymol.* 1978, 52, 302-310.
- ³ M. Bueno, V.C. Resconi, M. Campo, J. Cacho, V. Ferreira, A. Escudero, *Food Chem.* 2011, 129 (4), 1909-1918.
- ⁴ A. Buettner en *Springer Handbook of Odor*, 1ª Ed. (Eds.: A. Buettner), Freising, Alemania, 2017, pp. 191-215.
- ⁵ M.M. Campo, G.R. Nute, S.I. Hughes, M. Enser, J.D. Wood, R.I. Richardson, *Meat Sci.* 2006, 72 (2), 303–311.
- ⁶ M.H. Chahine, J.M. deMan, *Can. Inst. Food Technol. J.* 1971, 4 (1), 24-28.
- ⁷ V. Coma, *Meat Sci.* 2008, 78, 90–103.
- ⁸ A. Dravnieks en *Atlas of odor character profiles*, 1ª Ed., Philadelphia, PA, 1985, 354 p.
- ⁹ J.S. Elmore, D.S. Mottram, M. Enser, J.D. Wood, *J. Agric. Food Chem.* 1999, 47, 1619–1625.
- ¹⁰ J.S. Elmore, M.M. Campo, M. Enser, D.S. Mottram, *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 1126–1132.
- ¹¹ E. Hernández en *Evaluación sensorial*, 1ª Ed. (Eds.: E. Hernández), Bogotá, Colombia, 2005, 7-40 p.
- ¹² M. Jakobsen, G. Bertelsen, *Meat Sci.* 2000, 54 (1), 49–57.
- ¹³ R.A. Lawrie en *Ciencia de la Carne*, 3ª Ed. (Eds.: A.M. Barrado, P.L. López, B. Marcos), Zaragoza, España, 1998, 67-292 p.
- ¹⁴ D. Machiels, S.M. van Ruth, M.A. Posthumus, L. Istasse, *Talanta.* 2003, 60, 755–764.
- ¹⁵ D. Machiels, L. Istasse, S.M. van Ruth, *Food Chem.* 2004, 86, 377–383.
- ¹⁶ R.A. Mancini, M.C. Hunt, *Meat Sci.* 2005, 71, 100-121.
- ¹⁷ L. Martinez, I. Cilla, J.A. Beltran, P. Roncales, *Meat Sci.* 2007, 75 (3), 443-450.
- ¹⁸ D.S. Mottram, *Food Chem.* 1998, 62 (4), 415–424.
- ¹⁹ K.W. McMillin, *Meat Sci.* 2008, 80 (1), 43–65.
- ²⁰ M.N. O’Grady, F.J. Monahan, J. Bailey, P. Allen, D.J. Buckley, M.G. Keane, *Meat Sci.* 1998, 50, 73–80.
- ²¹ M.N. O’Grady, F.J. Monahan, R.M. Burke, P. Allen, *Meat Sci.* 2000, 55 (1), 39-45.
- ²² A. Pfalzgraf, M. Frigg, H. Steinhart, *J. Agric. Food Chem.* 1995, 43, 1339-1342.

Caracterización química del aroma en muestras de carne de vacuno cruda: Variación del perfil aromático durante el almacenamiento y la exposición del producto.

- ²³ G. Renand, B. Picard, C. Touraille, P. Berge, P. Lepetit, Meat Sci. 2001, 59, 49-60.
- ²⁴ V.C. Resconi, A. Escudero, J.A. Beltrán, J.L. Olleta, C. Sañudo, M. Campo, J. Food Sci. 2012, 71, 10-18.
- ²⁵ A. Sanchez-Escalante, G. Torrescano, D. Djenane, J.A. Beltran, B. Gimenez, P. Roncales, CyTA - J. Food. 2011, 9 (1), 49-57.
- ²⁶ S. Schindler, U. Krings, R.G. Berger, V. Orlien, Meat Sci. 2010, 86 (2), 317-323.
- ²⁷ S.C. Seideman, P.R. Durland, J. Food Qual. 1984, 6, 239-252.
- ²⁸ P. Singh, A.A. Wani, S. Saengerlaub, H.C. Langowski, Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2011, 51 (2), 146-177.
- ²⁹ S.X. Zhang, M.M. Farouk, O.A. Young, K.J. Wieliczko, C. Podmore, Meat Sci. 2005, 69 (4), 765-772.
- ³⁰ L.W. Aurand, N.H. Boone, G.G. Giddings, J. Dairy Sci. 1977, 60 (3), 363-369.