

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**EFECTO DEL ULTRASONIDO DE ALTA INTENSIDAD SOBRE LAS
PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE CARNE DE
BOVINO**

POR:

M.C. CRISTINA VALENZUELA GONZÁLEZ

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR IN PHILOSOPHIA CON ÁREA MAYOR EN CIENCIA DE LA
CARNE**



Efecto del ultrasonido de alta intensidad sobre las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de carne de bovino. Disertación presentada por Cristina Valenzuela González como requisito parcial para obtener el grado de Doctor in Philosophia, ha sido aprobada y aceptada por:

Ph.D. Carlos Ortega Ochoa
Director de la Facultad de Zootecnia y Ecología

Ph.D. Alma Delia Alarcón Rojo
Secretaria de Investigación y Posgrado

D.Ph. Agustín Corral Luna
Coordinador Académico

Ph.D. Alma Delia Alarcón Rojo
Presidente

16-Diciembre-2016

Fecha

Comité:

Ph.D. Alma Delia Alarcón Rojo
Ph.D. Ana Luisa Rentería Monterrubio
Dr. Eduardo Santellano Estrada
Dr. Armando Quintero Ramos
Ph.D. Iván Adrián García Galicia

© Derechos Reservados
CRISTINA VALENZUELA GONZÁLEZ
KM 1 DEL PERIFÉRICO R. ALMADA,
CHIHUAHUA, CHIH.
DICIEMBRE DE 2016

AGRADECIMIENTOS

A Ph. D. Alma Delia Alarcón Rojo por su apoyo, amistad, paciencia y ayuda incondicional, esencial e invaluable, para la culminación de este trabajo.

A mis asesores: Dr. Ana Luisa Rentería Monterrubio, Ph. D. Eduardo Santellano Estrada, Ph. D. Armando Quintero Ramos y Ph.D. Iván Adrián García Galicia por su valioso tiempo y grandes aportaciones a este trabajo.

A CONACYT por brindarme la beca durante los tres años de doctorado.

A todas aquellas personas que de algún modo contribuyeron en la elaboración de esta tesis.

A Dios, por permitirme llegar a esta etapa de mi vida.

DEDICATORIA

A mi esposo Benigno por ser el amor de mi vida y la persona que siempre está a mi lado apoyándome.

A mis hijos Ana Victoria, Benigno Iván e Iker Santiago, por ser parte de mi vida, llenarla siempre de amor y alegría, y por ser el motor que me impulsa a seguir adelante.

A mis padres, por estar siempre, incondicionalmente, apoyándome y ayudándome a salir adelante y por todo lo que me han dado en la vida.

A mis hermanos, por su compañía y apoyo.

CURRICULUM VITAE

La autora nació el 19 de marzo de 1984 en la Ciudad de Parral, Chihuahua, México.

2003-2007	Estudios de Licenciatura en la Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Químicas.
2007-2009	Estudios de Posgrado en la Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Químicas.
2009-2012	Estudiante Graduado de la Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia y Ecología
2014-a la fecha	Profesor de Tiempo Completo de la Universidad Tecnológica de Chihuahua Sur.

RESUMEN

EFFECTO DEL ULTRASONIDO DE ALTA INTENSIDAD SOBRE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE CARNE DE BOVINO

POR:

M.C. CRISTINA VALENZUELA GONZÁLEZ

Doctorado in Philosophia

Área mayor: Ciencia de la Carne

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Ph. D. Alma Delia Alarcón Rojo

Con el objetivo de evaluar el efecto del ultrasonido de alta intensidad sobre las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y oxidación de lípidos de carne de bovino se diseñó un experimento con dos tratamientos: un control sin aplicación de ultrasonido y uno con una aplicación de ultrasonido de 40 kHz de frecuencia y 11 W/cm^2 de intensidad por un tiempo de 60 min. Las variables medidas fueron color, pH, capacidad de retención de agua, pérdida por goteo, esfuerzo de corte, crecimiento de bacterias coliformes *Stafilococcus aureus*, mesófilos, psicrófilos, y hongos y levaduras. Además se evaluó el efecto del

ultrasonido sobre la oxidación de los lípidos de la carne. Todas las evaluaciones se realizaron antes del tratamiento, inmediatamente después de éste y a los 3, 6 y 9 días de almacenamiento a 4°C. La carne tratada con ultrasonido fue más luminosa, y con menor intensidad de color rojo durante el almacenamiento ($p < 0.05$). Además se observó que el ultrasonido produjo carne con menor pH que el control y con una mayor capacidad de retención de agua mayor comparada con la carne control ($p < 0.05$), aunque estas dos últimas presentaron valores igual al control durante el almacenamiento. La carne tratada mostró menores pérdidas por goteo que el control ($p < 0.05$) pero éstas presentaron una tendencia a aumentar al día 9 de almacenamiento. El ultrasonido no tuvo efecto en el esfuerzo de corte de la carne ($p = 0.0867$), aunque éste disminuyó en el almacenamiento ($p < 0.05$). Los conteos de coliformes totales, *Stafilococcus aureus*, bacterias mesófilas y bacterias psicrófilas disminuyeron con la aplicación del ultrasonido ($p < 0.05$). Los hongos y levaduras se incrementaron en la carne ultrasonicada, particularmente después del día 6 de almacenamiento ($p < 0.05$). La oxidación de los lípidos de la carne no presentó efecto del ultrasonido ($p = 0.1782$) pero ésta disminuyó en el almacenamiento. El ultrasonido puede ser una alternativa para la conservación de carne ya que ayuda a reducir el número de microorganismos presentes y con ello evitar el deterioro de la carne sin efectos negativos en la calidad fisicoquímica; por lo tanto, el ultrasonido es una tecnología emergente que puede aportar beneficios en el procesamiento y la conservación de la carne.

EFFECT OF HIGH INTENSITY ULTRASOUND ON PHYSICOCHEMICAL AND
MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF BOVINE MEAT

By:

M.C. CRISTINA VALENZUELA GONZÁLEZ

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of high intensity ultrasound on the physicochemical, microbiological and lipid oxidation of beef, an experiment was designed with two treatments: one control without ultrasound application and one with an application of ultrasound with a frequency of 40 kHz and an intensity of 11 W/cm² for a time of 60 min. The variables measured were color, pH, water holding capacity, drip loss, shear force, growth of total coliforms, *Stafilococcus aureus*, mesophiles, psychrophils, and fungi and yeasts. The oxidation of the lipids of the meat was also evaluated. All measurements were performed prior to treatment, immediately after treatment and at 3, 6 and 9 days of storage at 4 °C. The meat treated with ultrasound was more luminous, and with less intensity of red color during the storage. It was also observed that ultrasound produced meat with lower pH and with a higher water holding capacity compared to the control meat, although the latter two presented values equal to the control during the storage. Treated meat showed lower drip losses than control but these losses showed a tendency to increase at day 9 of storage. Ultrasound had no effect on the beef shear force (P = 0.0867), although this decreased in storage.

The counts of total coliforms, *Stafilococcus aureus*, mesophilic bacteria and psychrophilic bacteria decreased with the application of ultrasound. Fungi and yeasts were increased in ultrasonicated meat, particularly after day 6 of storage. Oxidation of meat lipids of had no ultrasound effect ($P = 0.1782$) but decreased in storage. Ultrasound can be an alternative for meat preservation as it helps to reduce the number of microorganisms present, and thus, avoid the deterioration of the meat without negative effects on the physicochemical quality. Therefore, ultrasound is an emerging technology that can bring benefits in the processing and preservation of meat.

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Página
1	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.3497 error estándar) para la luminosidad (L^*) de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	37
2	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.4551 error estándar) para la tendencia al color rojo (a^*) de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	41
3	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.3526 error estándar) para la tendencia al color amarillo (b^*) de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia	42
4	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.02458 error estándar) para el pH de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	45
5	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.4731 error estándar) para la capacidad de retención de agua de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	48
6	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.1209 error estándar) para la pérdida por goteo de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	51
7	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.1042 error estándar) para el esfuerzo de corte (EC) de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	55
8	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.08050 error estándar) del crecimiento de <i>Stafilococcus aureus</i> de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	60

9	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.0958 error estándar) del crecimiento de bacterias coliformes de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia	63
10	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.0805 error estándar) del crecimiento de bacterias mesófilas de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	67
11	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.1052 error estándar) del crecimiento de bacterias psicrófilas de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	70
12	Medias de los cuadrados mínimos (± 0.0362 error estándar) del crecimiento de hongos y levaduras de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	75
13	Efecto del ultrasonido sobre la oxidación de músculo <i>Semitendinosus</i> de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.....	77

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Intervalos de frecuencia de sonido.....	5
2	Diagrama del proceso de cavitación intracelular.....	8

CONTENIDO

RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE GRÁFICOS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	Xii
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Ultrasonido y su Aplicación en la Industria de los Alimentos.....	3
Cavitación.....	6
Aplicaciones de Ultrasonido.....	7
Propiedades Físicoquímicas de la Carne	9
Color	9
pH	10
Capacidad de retención de agua	11
Pérdida por goteo	12
Dureza	12
Efecto del Ultrasonido en las Características Físicoquímicas ..	14
Microbiología de la Carne	17
Hongos y Levaduras	22
Efecto del Ultrasonido sobre los Microorganismos.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
Descripción del Área de Estudio.....	27
Obtención de la Carne.....	27

Diseño de los Tratamientos.....	27
Aplicación del Ultrasonido.....	28
Variables Fisicoquímicas Evaluadas.....	28
Determinación del color.....	28
Determinación del pH.....	28
Determinación de la capacidad de retención de agua ...	29
Determinación de la pérdida por goteo.....	29
Determinación del esfuerzo de corte.....	30
Análisis Microbiológico.....	30
Variables microbiológicas a evaluar.....	32
Determinación de oxidación de lípidos.....	33
Análisis Estadístico.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
Efecto del ultrasonido sobre las variables fisicoquímicas en carne de bovino.....	36
Color.....	36
pH.....	44
Capacidad de retención de agua (CRA).....	47
Pérdida por goteo (PG).....	50
Esfuerzo de corte (EC).....	54
Efecto del ultrasonido sobre las características microbiológicas de la carne de bovino.....	59
<i>Stafilococcus aureus</i>	59

Coliformes.....	62
Bacterias mesófilas.....	66
Bacterias psicrófilas.....	69
Hongos y levaduras	74
Efecto del ultrasonido sobre la oxidación de lípidos de carne de bovino.....	76
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	80
LITERATURA CITADA.....	82

INTRODUCCIÓN

El procesamiento de los alimentos está en constante evolución en respuesta a los diferentes desafíos de la actualidad. Los cambios en los gustos de los consumidores y la necesidad de producir alimentos seguros y de calidad son los responsables de la evolución en los procesos alimentarios ya establecidos. El ultrasonido es un ejemplo de las tecnologías intermedias y su aplicación podría llevar a una mejora ya que puede ser aplicado para controlar características de los productos o mejorando los procesos de la conservación y transformación de los alimentos, al afectar la transferencia de masa, el rendimiento o la calidad del producto (Gallego-Juárez *et al.*, 2010; Cárcel *et al.*, 2011).

Así mismo, durante los últimos años se han presentado cambios en la conservación de los alimentos, particularmente en los procesos tradicionales como las tecnologías térmicas, las cuales paulatinamente están siendo sustituidas por tecnologías no-térmicas, como; alta presión, pulsos eléctricos, micro filtración y ultrasonido de potencia. Aunque el calor sigue siendo la técnica más utilizada para la inactivación de microorganismos en los alimentos, existe un interés creciente en el desarrollo de tecnologías alternativas. Esto en respuesta a que los consumidores buscan productos sin alteraciones en el sabor y contenido nutricional, mismo que si cambia con el procesamiento con calor. Por lo tanto, la industria alimentaria se ha visto en la necesidad de desarrollar tecnologías alternativas de transformación para producir alimentos con un mínimo de pérdidas de nutrientes, disminución de cambios

fisicoquímicos y organolépticos que son inducidos por las tecnologías tradicionales, así como el mantenimiento de los perfiles microbiológicos (Gallego-Juárez *et al.*, 2010; Piyasena *et al.*, 2003).

Sin embargo, los resultados reportados son muy variables y antes de recomendar la aplicación de la tecnología del ultrasonido a nivel industrial es necesario dilucidar con claridad los efectos que esta tecnología puede ocasionar en la calidad de la carne.

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación es estudiar el efecto del ultrasonido en las características fisicoquímicas, microbiológicas y de calidad de la carne.

REVISIÓN DE LITERATURA

Ultrasonido y su Aplicación en la Industria de los Alimentos

Una de las tecnologías verdes emergentes y de procesamiento mínimo con gran potencial en la industria de alimentos, específicamente en la industria cárnica, es la de los ultrasonidos de potencia (Ohlsson y Bengtsson 2002; Mason *et al.*, 2005; Gallego-Juárez *et al.*, 2010).

El ultrasonido es una forma de energía de las vibraciones mecánicas en un sólido o líquido a una frecuencia superior a la frecuencia audible por el humano (16-18 kHz). La frecuencia más baja de ultrasonido es de 20 kHz y el límite superior se considera en 5 MHz para gases y 500 MHz para líquidos y sólidos. El uso del ultrasonido se clasifica en dos grupos, el ultrasonido de baja potencia, que involucra el uso de frecuencias altas 2-10 MHz, y baja potencia (por debajo de 10 W). El ultrasonido de baja potencia no es destructivo y es ampliamente usado como una herramienta de diagnóstico en medicina y en análisis químicos. Las técnicas de ultrasonido, son cada vez más populares en la industria de procesamiento de alimentos para monitorear un proceso o un producto (Piyasena *et al.*, 2003; Jayasooriya *et al.*, 2004). Una variedad de características del producto, como lo son composición, estructura, textura, nivel de líquido, espesor y velocidad de caudal son monitoreados usando ultrasonido (Jayasooriya *et al.*, 2004).

El otro grupo de ultrasonido de potencia, es el que usa altos niveles de potencia (cientos de W a 10 kW) y baja frecuencia (20 y 100 kHz) y produce

efectos físicos, químicos y mecánicos en los materiales, alterando sus propiedades (por ejemplo la integridad física y acelerando la velocidad de algunas reacciones químicas), a través de la generación de una inmensa presión, corte y un gradiente de temperatura en el medio a través del cual se propagan las ondas sónicas (Jayasooriya *et al.*, 2004).

El ultrasonido de interés en la conservación de alimentos es el que se muestra en la Figura 1 que es el ultrasonido de alta intensidad, con su aplicación se involucran cambios físicos y químicos (Chemat *et al.*, 2008.; Mason, 1998).

El ultrasonido se divide básicamente en:

- Ultrasonido de diagnóstico o de alta frecuencia (2-10 MHz)
- Ultrasonido de potencia o de baja frecuencia (20-100 kHz).

El ultrasonido de diagnóstico o de alta frecuencia se efectúa cuando un pulso de sonido es liberado a través de un medio de detección de un eco de este sonido y regresa después de reflejarse en la superficie de un objeto sólido, el límite de una fase o de otra interfaz. El ultrasonido de diagnóstico puede ser utilizado para proveer información sobre las propiedades fisicoquímicas, como la estructura, composición, estado físico y velocidad de flujo (Mason, 1998; Gallego-Juárez *et al.*, 2007).

El ultrasonido de potencia o de baja frecuencia provoca el fenómeno de cavitación, por lo que se estudia en la industria de alimentos ya que por dicho

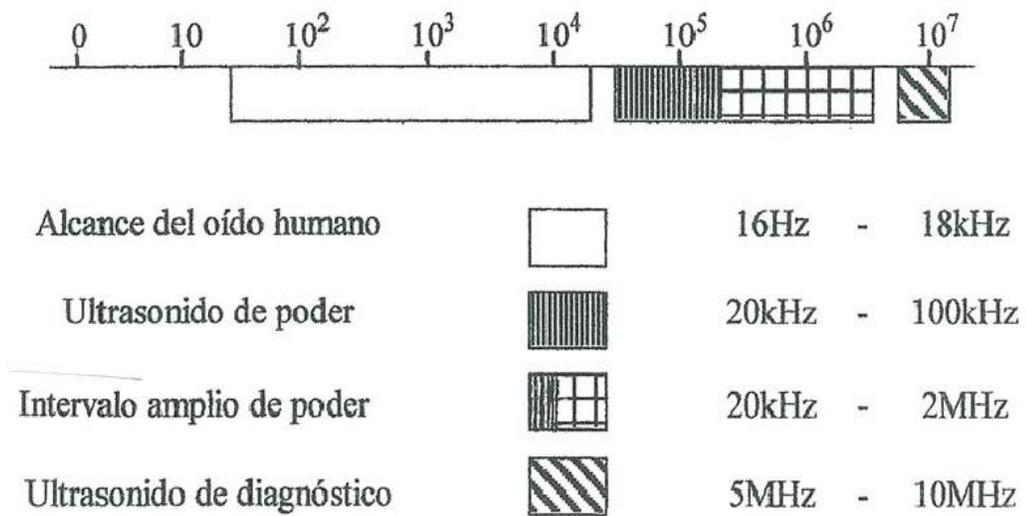


Figura 1. Intervalos de frecuencia de sonido (Chemat *et al.*, 2008).

fenómeno se pueden alterar las propiedades tanto físicas como químicas de los alimentos. Por ejemplo el ultrasonido de baja potencia ayuda a la cristalización de grasas y azúcares, inhibe enzimas, altera de reacciones químicas, oxidaciones, congelación y ablandamiento de carne entre otros. Otro efecto importante es que causa daño en la pared celular con lo que inhiben y se destruyen microorganismos, pudiendo generar una nueva tecnología de conservación de alimentos (Jayasooriya *et al.*, 2004, Alarcón-Rojo *et al.*, 2015).

Debido a que las aplicaciones del ultrasonido de alta intensidad provocan cambios en las propiedades físicas y químicas de la carne y productos cárnicos, ha sido de gran interés para los investigadores, porque es una técnica física que proporciona una alternativa a los medios de transformación químicos o térmicos (Jayasooriya *et al.*, 2004).

Cavitación

La cavitación es el crecimiento y colapso de burbujas de gas en el medio líquido (Figura 2). La implosión de dichas burbujas puede generar presiones y temperaturas elevadas en puntos muy localizados del medio que a su vez pueden producir una serie de efectos en el material como es modificar la absorción de agua y sales en las células y producir un incremento en la porosidad de las membranas, la ruptura y lisis celular, así como la generación de microcanales y la aceleración de ciertas reacciones químicas. Además, los ultrasonidos pueden generar microcorrientes en las interfaces sólido-líquido disminuyendo la resistencia externa a la transferencia de masa y facilitando el

transporte de materia. Por lo tanto, los ultrasonidos pueden afectar tanto a la estructura interna de los materiales como a la relación de los mismos con su entorno (Chemat *et al.*, 2008).

Los factores que afectan la cavitación son: las propiedades físicas del solvente, la temperatura, frecuencia de radiación, presencia de gases disueltos, limpieza del sistema de reacción, frecuencia del ultrasonido, presión hidrostática, tensión superficial y potencia de radiación (Jayasooriya *et al.*, 2004).

Aplicaciones del ultrasonido

Existen diversas aplicaciones del ultrasonido en general, pero en el procesamiento de alimentos se encuentran las siguientes (Mason, 1998; Gallego-Juárez *et al.*, 2007; Chemat *et al.*, 2011):

- Procesos de oxidación; en el desarrollo de aromas y sabores, así como en la producción de vinos.
- Reacciones enzimáticas; en la prevención del oscurecimiento prematuro de algunos vegetales, en la inhibición de enzimas evitando el desarrollo de malos olores y sabores.
- Estimulación celular; acelera la producción de yogurt y en la industria agrícola se han tenido resultados exitosos en la germinación de semillas.
- Esterilización; es una de las aplicaciones más comunes y utilizadas por su poder para descontaminar tanto superficies de materiales como alimentos.

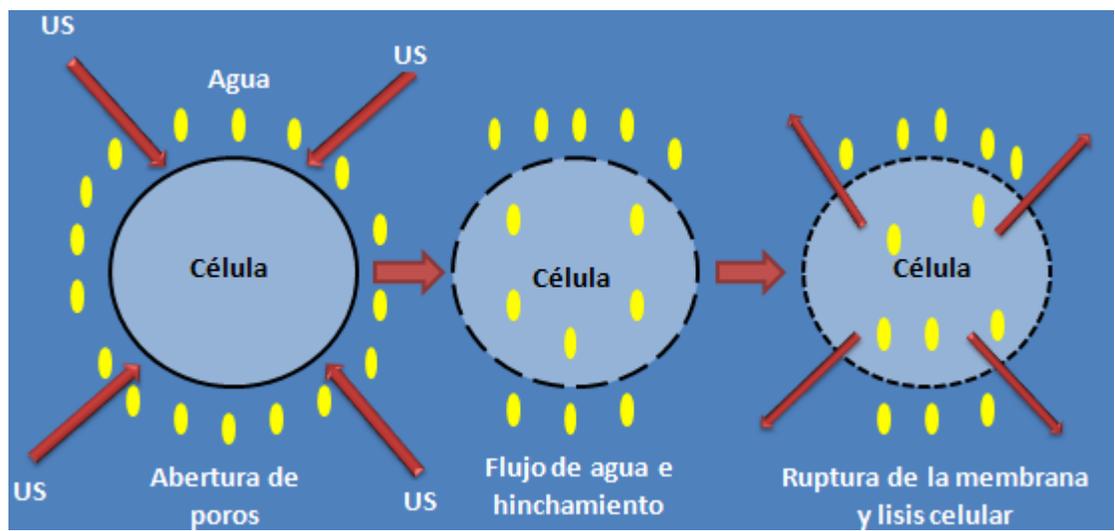


Figura 2. Diagrama del proceso de cavitación intracelular (Chemat *et al.*, 2008).

- Emulsificación ultrasónica; el colapso de burbujas formadas por la cavitación cerca de la línea de división entre las dos fases, hace que estas se una formando emulsiones muy estables. Es utilizado en la industria farmacéutica, textil y cosmética.
- Extracción; en la extracción de azúcar, proteínas (soya), sólidos de hojas para formar té y componentes medicinales entre otros,
- Productos cárnicos; en la formación de la emulsión para preparar jamones, por la ruptura de las miofibrillas de la carne.
- Cristalización; controla el tamaño de los cristales cuando los alimentos son congelados, especialmente en vegetales, ya que al aumentar el tamaño del cristal se incrementa el daño estructural y es uno de los factores de calidad más importantes en el manejo de alimentos.
- Desgasificar; retira aire o gas de líquidos viscosos como el chocolate.
- Filtración; facilita la separación de partículas suspendidas en líquidos.
- Secado acústico; incrementa la transferencia de calor entre el sólido y el líquido, evita la oxidación y degradación del material.

Propiedades Fisicoquímicas de la Carne

Color

El color es uno de los parámetro más importantes en la calidad de la carne y juega un rol esencial en la aceptación ya que ésta es la primera característica apreciada sensorialmente por los consumidores. El color de la carne se expresa por la percepción de la luz de una cierta longitud de onda reflejada por un

objeto. El color es un factor importante para la calidad de la carne, ya que un color rojo atractivo en la carne se valorará positivamente y un color oscuro a marrón se rechazará por el consumidor. En carnes rojas, el color rojo brillante está relacionado con la frescura y de esta característica depende el rechazo o la aceptación por parte de los consumidores (O'Sullivan *et al.*, 2003; Pardo *et al.*, 2006). El color de la carne es resultado de la cantidad de mioglobina y su estado químico en el músculo, la desoximioglobina y la mioglobina son responsables del color púrpura en carne fresca. Cuando la carne está expuesta por varios minutos al aire la desoximioglobina se oxigena para transformarse a oximioglobina, y ésta provocará el color rojo cereza en la carne. Cuando la carne está expuesta varias horas o días al aire, la carne tomará un color pardo o café debido a la oxidación de la oximioglobina que dará paso a la metamioglobina responsable de estos colores en la carne. Existen otros pigmentos en la carne, algunos provienen de fuentes externas, a veces en cantidades insignificantes, que indican comunmente deterioro.

pH

El pH es uno de los parámetros más importantes de calidad de la carne ya que éste afecta la estabilidad de las proteínas. De su valor final, dependen los atributos de calidad del producto; dentro de las más importantes se encuentran la capacidad de retención de agua, la pérdida por goteo y el color (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005). También el pH es responsable de la calidad de los productos, ya que un incremento en el pH provoca un aumento en la capacidad de retención de agua de la carne, debido a los cambios en las cargas eléctricas

de las proteínas musculares, ya que el pH se localiza por arriba del punto isoeléctrico.

Capacidad de retención de agua (CRA)

Se define como la habilidad que poseen las proteínas de la carne o músculo para retener y/o movilizar firmemente agua propia de la carne o añadida durante la aplicación de una fuerza conocida (Melody *et al.*, 2004; Pardo *et al.*, 2006). Algunas características de la carne que están ligadas a la CRA son color, textura, firmeza, jugosidad y blandura. La CRA de la carne se ve afectada por factores como: instauración de *rigor mortis*, pérdida de ATP y cambios en la estructura miofibrilla asociados en parte a la actividad proteolítica. Muchas otras características se encuentran estrechamente relacionadas o dependen de la CRA como es la pérdida por goteo.

Aproximadamente tres cuartas partes de la carne es agua y en el músculo del animal en vivo cerca del 10% está ligada a proteínas musculares, mientras que otras 5 a 10% están localizadas en el espacio extracelular lo cual se ve representado en los pequeños canales entre las porciones de las células adyacentes. Sin embargo, la mayoría del agua se mantiene en los espacios del filamento delgado y grueso de las miofibrillas. En cualquier músculo la CRA es mínima a pH bajos y por efecto de la maduración esta tiende a aumentar debido a la degradación de las proteínas y cambios en las cargas eléctricas por reorganización intramolecular (Lawrie y Ledward, 2006). Si la CRA es baja las pérdidas por humedad o mermas de peso durante el almacenamiento son

mayores por evaporación superficial y exudación de la superficie de los cortes debido a que la CRA se relaciona con muchas características fisicoquímicas de sus componentes proteicos y miofibrilares. Su determinación es el principal indicador de la aptitud de la carne para elaboración de determinado producto.

Pérdida por goteo

Este parámetro es un problema de tipo económico, primeramente por la pérdida de peso al momento del corte, lo que provoca una acumulación de líquido alrededor del mismo y, por consecuencia, un rechazo por parte del consumidor (Melody *et al.*, 2004; Janz *et al.*, 2007). Se ha señalado que la pérdida por goteo es la solución roja acuosa de proteínas que emerge por encima de la superficie del corte muscular en un periodo de tiempo, sin embargo se ha señalado que la pérdida de agua por goteo solamente mide el exudado de agua extracelular de la carne (Morón-Fuenmayor y Zamorano García, 2004; Ocampo *et al.*, 2009). La pérdida por goteo se realiza para determinar las mejores condiciones de refrigeración, congelación, envasado y almacenado de la carne, por lo tanto, con los resultados de la medición de este parámetro también se puede determinar la CRA.

Dureza

La terneza o blandura es considerada como uno de los atributos más importantes de calidad de la carne cocida. La inconsistencia en esta característica de la carne ha sido considerado como uno de los principales problemas que enfrenta la industria (Koochmaraie, 1987). Algunos métodos y

procedimientos para reducir el tiempo de terneza de la carne, incluyen estimulaciones eléctricas, presurización, infusión con calcio, tratamiento enzimático y marinado. La terneza es influenciada por la composición, la organización estructural y la integridad del músculo esquelético. Los dos componentes estructurales que determinan la fuerza intrínseca del músculo son las proteínas miofibrilares y los tejidos conectivos (Lyng *et al.*, 1998a). La blandura miofibrilar puede ser controlada mediante la manipulación de las condiciones antes y después del sacrificio mediante el uso de métodos físicos, como la estimulación eléctrica y suavizado elástico mediante la suspensión de la pelvis de la canal antes del rigor. La terneza de la carne después del rigor también puede ser mejorada por métodos mecánicos, como ablandamiento por navajas, la tecnología de molienda de alta presión (1000-8000 bares) y el proceso con hidrodine, que utiliza una pequeña cantidad de explosivos para generar shock hidrodinámico y ondas para ablandar la carne. También se están utilizando métodos químicos para la terneza de la carne como la inyección de una salmuera que contiene cloruro sódico, cloruro cálcico, polifosfatos y ácidos y métodos bioquímicos tales como la actividad de factores exógenos (por ejemplo, la bromelina, la fisina y la papaína) o de enzimas endógenas durante el envejecimiento (añejamiento) (Lyng *et al.*, 1998b; Jayasooriya *et al.*, 2004). Todos estos métodos son invasivos, ejercen deformación y afectan la apariencia de la carne. Además algunos, como la inyección presenta la posibilidad de contaminar la carne con agujas infectadas. Por lo tanto, el ultrasonido se podría contemplar como una tecnología potencial para ablandar la carne evitando algunas de esas desventajas.

Efecto del Ultrasonido en las Características Físicoquímicas

En el pH de la carne no se han observado cambios drásticos por efecto del ultrasonido como lo demuestran varios autores (Dolatowski *et al.*, 2007; Dolatowski *et al.*, 2000, Jayasooriya *et al.*, 2007; Stadnik y Dolatowski 2011). Sin embargo otros autores han observado incrementos ligeros en el pH inicial de la carne (Stadnik *et al.*, 2008). Por ejemplo, Got *et al.* (1999) al aplicar el tratamiento ultrasónico (2.6MHz, 10W/cm²) a músculo semimembranoso previo al rigor mortis observó un ligero incremento en el pH sin alteraciones significativas en el pH final. Similarmente, Jayasooriya *et al.* (2007) sonicaron (24 kHz, 12 Wcm⁻²) músculos bovinos (*Longissimus lumborum et thoracis* y *Semitendinosus*) por un máximo de 4 min y posteriormente los almacenaron por 8 días, los resultados mostraron un incremento en la blandura y en el pH sin interacción significativa entre ultrasonido y tiempo de maduración. Este aumento fue atribuido a la liberación de iones de la estructura celular en el citoplasma o debido a un cambio en la estructura de la proteína, lo que podría conducir a la modificación en la posición de algunos grupos iónicos que pudieran producir amortiguamiento del pH muscular.

Los resultados en color de la carne son variables. Algunos autores sugieren que los parámetros CIE L*a*b* no son afectados por el tratamiento con ultrasonido (Stadnik y Dolatowski 2011; Sikes *et al.*, 2014), ya que consideran que el calor generado no es suficiente para la desnaturalización y para la oxidación de los pigmentos de color (Jayasooriya *et al.*, 2007), sin embargo, otros autores han reportado incremento cambios en el color (Pohlman *et al.*,

1997) de carne sometida a ultrasonido (22W / cm²) observando un cambio a un color más claro (inferior L *), menos rojo (inferior a *), más amarillo (b * superior), más naranja (más grande ángulo de tono) y menos brillante con respecto a el control. Además, Stadnik y Dolatowski (2011) observaron que el ultrasonido acelera el cambio total de color, limita la formación de oximioglobina y ralentiza la formación de metamioglobina.

La capacidad de retención de agua es una característica de calidad de la carne y tiene influencia en el rubro económico; por lo tanto, el análisis de este parámetro en el la carne tratada con el ultrasonido es importante (Gambuteanu *et al.*, 2013). Los resultados observados a la fecha son muy variables, algunos autores mencionan que el ultrasonido aumenta las tasas de exudado carne y de pérdida de agua (Chang *et al.*, 2015) mientras que otros mencionan que no hay efecto sobre la capacidad de retención de agua (Smith, 2011) y en la pérdida por goteo (Jayasooriya *et al.*, 2007) en carne de bovino (24 kHz, 12 W cm⁻²). En contraste, otros autores indican que la carne ultrasonicada tiene mayor capacidad de retención de agua (Dolatowski *et al.*, 2007; Pohlman *et al.*, 1997; *et al.*, 2008), dando valores similares a una carne en etapa avanzada *postmortem*. La explicación podría deberse a la influencia del ultrasonido en los cambios estructurales de las proteínas miofibrilares; lo anterior es confirmado por los fotogramas de la microestructura (Stadnik *et al.* 2008). La variabilidad de los resultados podría deberse a la forma de aplicar el ultrasonido, ya que hay diferencias en tiempos e intensidades usados entre los autores consultados lo cual dificulta su comparación.

Se ha propuesto que la cavitación acústica induce la ruptura mecánica de la estructura de proteínas miofibrilares (Stadnik *et al.*, 2008), la fragmentación de las macromoléculas de colágeno y la migración de proteínas, minerales y otros compuestos con la consecuente aceleración de la proteólisis o desnaturalización de las proteínas (Siró *et al.*, 2009). Los cambios estructurales que se ven afectados con el ultrasonido de potencia son diversos, esta revisión está enfocada en los cambios esperados en la estructura del tejido muscular. El ultrasonido de alta intensidad es capaz de ocasionar degradación celular y de algunos componentes subcelulares, debido a que la oscilación periódica de la presión acústica causa reblandecimiento de las membranas celulares. Se han encontrado resultados de la interrupción de tejidos en la migración de proteínas, minerales y otros componentes y, por lo tanto, la aceleración de la actividad enzimática y la degradación de macromoléculas de colágeno (Jayasooriya *et al.*, 2004). Además de ablandar la carne, el ultrasonido de alta intensidad puede mejorar las propiedades sensoriales de la carne (Pohlman *et al.*, 1997). La ternura es un factor importante que los consumidores asocian con calidad en la carne (Stadnik y Dolatowsky, 2011), debido a este factor se han hecho innumerables estudios para mejorar este aspecto en la carne, particularmente en la aplicación del ultrasonido se han manejado diversos tiempos de sonicado, frecuencias e intensidades, encontrando resultados muy variables (Lyng *et al.*, 1997). Los resultados de diferentes estudios no pueden ser comparables debido a diferencias en el tipo de músculos que se usan, la edad de los animales, el equipo de ultrasonidos y la eficiencia, las intensidades, frecuencias, y la duración de los tratamientos de ultrasonido. El efecto mecánico de la cavitación

ultrasonica puede ser responsable de la reducción en el peso molecular del colágeno aunque el tropocolágeno mantiene su estructura helicoidal original. Se ha indicado que el uso del ultrasonido de potencia reduce el nivel de tejido conectivo intramuscular con lo cual se mejora la textura (Jayasooriya *et al.*, 2004). En un experimento con músculo aislado de fibras de cordero se observaron daños leves en las membranas plasmáticas de las fibras musculares con una posible activación de la proteólisis después de 2 días.

También es posible que como resultado de la aplicación de ultrasonido se modifique la cantidad de ATP disponible en el músculo en la etapa pre rigor (Sikes *et al.*, 2014), se acelere el inicio del rigor mortis (Dolatowski y Twarda 2004; Stadnik y Dolatowski, 2011) e incremente la tasa de maduración de la carne (Chandrapala, 2015).

Microbiología de la Carne

Las bacterias son los microorganismos más importantes en el procesamiento de alimentos. La mayoría son inofensivos, muchos son muy beneficiosos, algunos indican la probable presencia de contaminación, el deterioro y algunos causan enfermedades. Hay miles de especies de bacterias, pero todas son unicelulares y caen en tres formas básicas: esféricas, bastones y espirales. Algunas bacterias en forma de bastones son capaces de existir en dos formas, esporas latentes y células vegetativas activas. Las células vegetativas forman esporas en condiciones adversas como medio de supervivencia.

Las formas de esporas preservan las bacterias de la inanición, el secado, la congelación, los productos químicos y el calor. Cuando las condiciones se vuelven favorables, las esporas germinan, con cada espora de nuevo convirtiéndose en una célula vegetativa con la capacidad de reproducirse. La mayoría de las bacterias esporulantes que crecen en presencia de aire pertenecen al género *Bacillus*, y la mayoría de las que crecen sólo en ausencia de aire pertenecen al género *Clostridium*.

La carne es un alimento susceptible al desarrollo de ciertos microorganismos patógenos que lo afectan de manera recurrente y que son un problema grave durante su obtención, procesamiento y almacenamiento, por ejemplo, *E. coli*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella spp.*, *Stafilococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Para evitar el crecimiento de microorganismos en la carne se emplean diversos métodos, los más utilizados involucran la aplicación de calor, deshidratación y la adición de conservadores (ICMSF, 2005).

Los tipos comunes de bacterias mesófilas que son patógenos para los seres humanos incluyen *Stafilococcus aureus*, salmonella y listeria. A pesar de que puede vivir sin daño en el tracto intestinal de una persona, la salmonela es una causa frecuente de intoxicación alimentaria en los seres humanos. Introducido a través de agua contaminada, alimentos contaminados y a veces, contacto con animales, como reptiles o aves, la salmonela puede infectar los intestinos, causando síntomas que van desde fiebre y diarrea leve hasta deshidratación severa o envenenamiento de la sangre. Otra bacteria mesofílica común es la listeria monocytogenes, que se distribuye con mayor frecuencia a

través de alimentos contaminados, como carnes crudas o quesos no pasteurizados (ICMSF, 2005).

Los animales y los seres humanos pueden transportar listeria, pero representa la mayor amenaza para aquellos con sistemas inmunológicos debilitados, como las mujeres embarazadas o los ancianos. En los EUA a listeria es la tercera causa principal de muertes relacionadas con intoxicación alimentaria. Algunas de las cepas de *E. coli* encontradas en las heces humanas son en sí mismas patógenas, causando infección y enfermedad. Estos se llaman enteropatógenas como la *E. Coli*.

Stafilococcus aureus es una bacteria esférica, Gram positiva, que se puede presentar en los cultivos de manera agrupada en parejas, cadenas cortas o como racimos de uvas. Los *Stafilococcus* son bacterias no esporuladas y sin movilidad pero resistentes a la desecación, es decir, fácilmente dispersables por las partículas de polvo a través del aire y las superficies (Forsythe, 2003).

S. aureus, está normalmente presente en la piel y en las membranas mucosas de los seres humanos y otros animales. Está casi siempre presente en pequeñas cantidades en carnes crudas y en alimentos manipulados extensivamente por manos humanas. Las cepas de intoxicación alimentaria provienen generalmente de fuentes humanas. Pasteurizar o cocinar destruye el organismo, pero no su toxina (Hennekinne *et al.*, 2012).

Los alimentos contaminados por organismos estafilococos pueden causar intoxicación alimentaria después de que los organismos han sido destruidos por el calor. Los números bajos (no más de unos pocos cientos por gramo) indican el grado de contacto con la piel humana o la mucosa nasal, la contaminación cruzada de la carne cruda, o los supervivientes de una población más grande. Los números altos (100.000 o más por gramo) indican que se permitió que las bacterias crecieran en el alimento, creando así el riesgo serio potencial de la presencia de la toxina.

Los *Stafilococcus* pueden producir enfermedades mediante la producción de muchas sustancias extracelulares, estas sustancias son enzimas y toxinas (Balaban and Rasooly, 2000). Los alimentos implicados en la intoxicación de este microorganismo son la carne y los derivados cárnicos, entre otros. Los alimentos que requieren de mucha manipulación en su preparación y que se mantienen a altas temperaturas son los implicados en esta intoxicación. Mantener los alimentos completamente libres de la contaminación de *Stafilococcus* es a menudo difícil o imposible. Por lo tanto, el procesador debe almacenar los alimentos a temperaturas que impiden el crecimiento de *Stafilococcus*. Es sólo durante el crecimiento que el *Stafilococcus* forma la toxina.

La carne es uno de los alimentos más perecederos conocidos por el hombre y es fácilmente dañado por las bacterias. Uno de los métodos de conservación más comúnmente utilizados es la refrigeración y la congelación. Sin embargo, algunos grupos especiales de bacterias son capaces de crecer a

4 ° C y son conocidos colectivamente como psicrófilos. Dentro de éstos se pueden encontrar algunos patógenos que incluyen *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, cepas no proteolíticas de *C. botulinum*, algunas cepas de *E. coli* enterotoxigénica y *Aeromonas hydrophilia*. Varios otros organismos de enfermedades transmitidas por los alimentos y que crecen a temperaturas de refrigeración incluyen: *Vibrio parahemolyticus*; *Bacillus cereus*; *Stafilococcus aureus* y ciertas cepas de *Salmonella* (ICMSF, 2005).

Al extenderse la refrigeración, especies de *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Moraxella* pueden crecer y dañar la carne fresca (Ercolini *et al.*, 2009). Se conoce que los organismos gram negativos sobreviven menos que los gram positivos (Farrell *et al.*, 1978; Sheridan, 1997; Speck y Ray 1997) sin embargo, estudios recientes han demostrado mayores tasas de supervivencia de bacterias gram negativas especialmente las especies de *Pseudomonas* que consisten en la mayoría de las bacterias responsables de la deterioración de carne refrigerada y otros productos alimenticios almacenados (Ercolini *et al.*, 2009).

Los alimentos refrigerados como las carnes procesadas deben almacenarse lo más cerca posible a 0 °C. Sin embargo, en la mayoría de los casos se mantienen cerca de 4 a 8 °C. Esta fluctuación de la temperatura reduce la vida útil de los productos, y puede conducir a un problema de importancia para la salud pública.

En la industria de la carne fresca se necesita incorporar tantos tratamientos como sea posible que ayudará a reducir la población microbiana y minimizar la reproducción. Algunos de estos tratamientos incluyen: calor, acidificación, conservantes, actividad reducida del agua, y empaquetado de la atmósfera modificada. A pesar de que la atmósfera modificada se incluye como una barrera potencial, hay que señalar que las atmósferas reducidas de oxígeno pueden realmente favorecer a los patógenos anaerobios. Para muchos productos, la atmósfera modificada es realmente una ayuda para mejorar la calidad del producto en lugar de la seguridad.

Hongos y Levaduras

Las levaduras son ovales y ligeramente más grandes que las bacterias. Se reproducen con mayor frecuencia. En el brote cada célula puede producir varios brotes que se separan para formar nuevas células enteras completamente formadas. Los mohos pueden prosperar en condiciones demasiado adversas para bacterias o levaduras. Las levaduras y los mohos crecen en la mayoría de los alimentos, en el equipo y en las superficies del edificio donde hay pequeñas cantidades de nutrientes y humedad (Davis y Board, 1998). Dado que las bacterias crecen más rápido, superan en gran medida las levaduras y los mohos en la mayoría de los alimentos. Sin embargo, las bacterias encuentran condiciones de bajo pH, humedad, o temperatura y alta sal o azúcar desfavorable. En tales ambientes predominan las levaduras o mohos. Por lo tanto, pueden ser un problema en alimentos secos, como carne seca y pescado salado (Tortorello, 2014).

Efecto del Ultrasonido sobre los Microorganismos

La eliminación de microorganismos es un área de preocupación que va en aumento para los consumidores. La destrucción microbiana eficaz es de suma importancia en el procesamiento de los alimentos; un solo informe de contaminación microbiana podría poner en duda la reputación y éxito futuro de un fabricante en situación de riesgo. Para minimizar la carga bacteriana de un producto, el fabricante debe reducir la contaminación inicial, inactivar los microorganismos presentes en el alimento y poner en práctica procedimientos para prevenir o retardar el crecimiento de las poblaciones microbianas que no han sido inactivadas.

Los métodos convencionales de inactivación bacteriana involucran tratamientos térmicos como lo es la pasteurización. Estos tratamientos generalmente producen sabores indeseables y la pérdida de nutrientes. Por otro lado, el tratamiento ultrasónico ha sido utilizado para la inactivación de poblaciones de bacterias (Piyasena *et al.*, 2003) donde por efecto de la cavitación se producen cambios de presión por las ondas ultrasónicas generadas lo que ocasiona una inactivación microbiológica (Piyasena *et al.*, 2003; Awad *et al.*, 2012). El daño microbiológico al aplicar diferentes amplitudes de onda de ultrasonido depende de factores como el tiempo de contacto con el microorganismo, el tipo de microorganismo, la cantidad y composición del alimento, así como la temperatura de tratamiento (Mason, 1998). La resistencia microbiana varía entre microorganismos, es decir, unos son más susceptibles que otros al proceso de ultrasonido.

Se ha observado que las células que son más grandes o más largas son más susceptibles al ultrasonido debido a que tienen mayor superficie de contacto y, por lo tanto, reciben mayor bombardeo por la presión producida por la cavitación (Mason, 1998; López-Malo *et al.*, 2005).

Las bacterias Gram positivas son menos sensibles al ultrasonido que las bacterias Gram negativas, asimismo, se ha observado que los microorganismos que tienen forma de bacilos tienden a ser más susceptibles que los cocos (Torley y Bhandari, 2007). Las bacterias Gram-positivas son más sensibles al ultrasonido posiblemente debido a que la pared celular es más gruesa y contiene una capa adherente de peptidoglicanos (Mason, 1998; Luo *et al.*, 2012; Mukhopadhyay y Ramaswamy, 2011). Por lo general, los microorganismos que producen esporas son los que presentan mayor resistencia al calor y al ultrasonido (Mason, 1998, López-Malo *et al.*, 2005).

Existe una cantidad considerable de datos sobre el impacto del ultrasonido en la inactivación de los microorganismos. Se realizó un estudio en donde se observaron efectos microbiológicos mientras las bacterias están suspendidas en un medio de cultivo. Se inoculó *Salmonella* en la piel de pollos de engorda y ésta se redujo con el tratamiento de ultrasonido en peptona a 20 kHz durante 30 min (Dolatowski *et al.*, 2007). Se ha reportado que es posible reducir el tratamiento térmico tradicional en un 50% mediante el uso de ultrasonido de potencia. Sin embargo, un nuevo concepto de tratamiento antimicrobial podría ser el efecto combinado de presión y ultrasonido (manosonicación) ultrasonido y calor (termosonication) o la combinación

ultrasonido, calor y presión (manotermosonicación) (Pagan *et al.*, 1999) siendo éstos probablemente los mejores métodos para inactivar microbios ya que son más eficientes en energía y eficaces para inhibir los microorganismos. La efectividad del ultrasonido requiere de exposición prolongada a altas temperaturas lo cual puede ocasionar deterioro de las propiedades funcionales, las características sensoriales y el valor nutritivo de los alimentos (Piyasena *et al.*, 2003). En combinación con el calor, el ultrasonido puede acelerar la velocidad de esterilización de los alimentos por lo tanto disminuir la duración e intensidad del tratamiento térmico y los daños resultantes.

En una investigación, la inactivación de *Salmonella typhimurium*, *Salmonella derby*, *Salmonella infantis*, *Yersinia enterocolitica*, y una no patógena de *Escherichia coli* se estudiaron en muestras inoculadas que fueron tratadas durante 0,5 a 2,0 s. Los recuentos de bacterias viables totales se redujeron 1,1 log UFC cm⁻² después del tratamiento durante 1 seg y en un 3,3 log UFC cm⁻² después del tratamiento por 4 seg. La reducción en la piel fue significativamente mayor que la reducción en la carne. Con una excepción, no se observaron diferencias significativas en la reducción entre los tipos de bacterias. Sin embargo, llama la atención el trabajo de Smith *et al.* (1991) donde no se reportó efecto en *Salmonella* o *E. coli* en carne de pollo marinada con ayuda del ultrasonido, posiblemente el ultrasonido por sí solo no es totalmente efectivo en la inhibición bacterial. Kordowska-Wiater y Stasiak (2011) investigaron la eliminación de bacterias Gram negativas (*Salmonella anatum*, *Escherichia coli*, *Proteus sp.*, y *Pseudomonas fluorescens*) de la superficie de la

piel de pollo después de tratamiento con ultrasonido (40 kHz y $2,5 \text{ Wcm}^{-2}$ por 3 o 6 min) en agua y en ácido láctico acuoso al 1%. La sonicación en agua sola o en ácido láctico durante 3 min resultó en una reducción del número de microorganismos en la superficie de la piel de $1,0 \text{ UFCcm}^{-2}$. El tratamiento con ultrasonido en combinación con un ácido láctico puede ser un método adecuado para la descontaminación de la piel de la canal de aves de corral. Herceg *et al.* (2013) estudiaron el efecto del ultrasonido de alta intensidad sobre la inactivación de suspensiones que contenían *Escherichia coli*, *Stafilococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus* tratados con una sonda de ultrasonido de 12,7 mm a 20 kHz y amplitudes de 60, 90 y 120 mm por 3, 6 y 9 min a 20, 40 y 60 °C. Los tres parámetros estudiados afectaron la inactivación de las bacterias en cultivos puros. Los resultados indicaron un aumento en la inactivación de los microorganismos a períodos más largos de tratamiento sobre todo en combinación con alta temperatura y amplitud. Otros reportes demuestran que el tratamiento de vapor y ultrasonido aplicado a canales de pollo en la línea de proceso reduce significativamente la cuenta del número de *Campylobacter* en aves contaminadas. El conteo total viable fue reducido en aproximadamente tres logaritmos al aplicar vapor y el ultrasonido inmediatamente después del sacrificio (Hanieh *et al.*, 2014).

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del Área de Estudio

El presente estudio se llevó a cabo en los laboratorios de Nutrición animal, Bioquímica y Microbiología de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua ubicada en el km 1 del Periférico Francisco R. Almada en la Ciudad de Chihuahua.

Obtención de la Carne

Se seleccionaron al azar 10 lomos (Semitendinosus) de bovino obtenidos en un local comercial. Dicha carne fue provenientes del rancho San Bernardino en la Ciudad de Saucillo Chihuahua. La raza de los animales fue de tipo Europeo (Una cruce de las Razas Hereford, Charolais, Aungus y Limosin). La edad de la población de estudio fue entre 20-36 meses aproximadamente y con un peso en pie entre 460 y 480 kg.

Diseño de los Tratamientos

De cada corte se retiró la grasa visible y se obtuvieron rebanadas de una pulgada de grosor, como unidades experimentales y se empacaron al vacío individualmente para su posterior análisis. Los tratamientos se formaron por la combinación de niveles de ultrasonido (0 y 60 min) y cuatro tiempos de almacenamiento (0, 3, 6 y 9 días). Cada rebanada se almacenó en refrigeración a 4°C.

Aplicación del Ultrasonido

Las muestras elegidas aleatoriamente para la aplicación de ultrasonido se radiaron en un baño marca Branson® mod. 1510 de 40 kHz de frecuencia y 11 W/cm² de intensidad utilizando agua destilada como medio de difusión.

Variables Fisicoquímicas Evaluadas

Se determinó color (L*, a* y b*), capacidad de retención de agua (CRA), pérdida por goteo (PG) y esfuerzo de corte (EC) en todas las muestras.

Determinación del color

Para determinar color, primero se eliminó el tejido conectivo y grasa visible sobre el músculo, se retiró la bolsa de vacío y permitiendo la oxigenación de la superficie de la carne por 20 min, posteriormente se realizaron las mediciones de los parámetros de color, de acuerdo a la técnica utilizada por Garrido *et al.* (1994).

Se determinaron por triplicado los valores de L* (luminosidad), a* (intensidad de color rojo), b* (intensidad de color amarillo) y C (cromaticidad) utilizando un colorímetro Minolta® CR400.

Determinación del pH

La determinación de pH se realizó por triplicado con un potenciómetro de punción modelo 101 (Sentrum® Integrate Sensor Technologie USA).

Determinación de la capacidad de retención de agua

Para determinar la capacidad de retención de agua (CRA) se utilizó una modificación a la técnica de Grau y Hamm (1953), en la cual se pesaron aproximadamente 0.3 g de muestra en una balanza analítica y se colocan entre dos papeles filtro los cuales a su vez se colocaron entre dos placas de plexiglass ejerciendo sobre éstas una presión de constante de 5 kg. La ecuación empleada para determinar el porcentaje de CRA es la siguiente:

$$\% \text{ agua libre} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso final}} \times 100$$

$$\text{CRA} = 100 - \% \text{ agua libre}$$

Determinación de la pérdida por goteo

Se cortó una porción de carne de aproximadamente 3 g y se suspendió con un hilo en un recipiente de plástico. Los recipientes tapados se almacenaron a 3°C por 48 h con la finalidad de calcular la pérdida por goteo. Se siguió la Técnica de Honikel y Hamm (1994).

La ecuación empleada para calcular la pérdida por goteo, es la siguiente:

$$\text{Pérdida por goteo} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

Determinación del esfuerzo de corte

Se evaluó utilizando un texturómetro marca Lloyd® TA1 6041 adaptado con una navaja Warner-Bratzler®. Las muestras se obtuvieron cocinando la carne a baño María hasta alcanzar una temperatura interna de 72°C y se enfriaron por 24 h. Posteriormente se obtuvieron las submuestras usando un sacabocados de 1.5 cm de diámetro por aprox. 3 cm de altura (Guerrero, 2002).

Análisis Microbiológico

Para realizar el análisis microbiológico, primeramente se desinfectó la parte exterior de la bolsa que contenía la carne para evitar la contaminación de la muestra y posteriormente el paquete fue abierto. Se tomó 1 ml de exudado de cada muestra. Las muestras se volvieron a empacar al vacío de manera individual en bolsas nuevas y se refrigeraron a 4°C para proceder con los análisis a los siguientes días de almacenamiento (0, 3, 6 y 9 d).

Después de realizadas las recolecciones de exudado, se preparó una serie de diluciones seriales hasta 1:1000000 en diluyente estéril (Maximum Recovery Diluent, CM0733, Oxoid®, Basingstoke, RU). Para el recuento de bacterias psicrófilas y mesófilas se empleó la técnica de recuento de colonias por extensión en placa (Amador *et al.*, 1993). De cada una de las diluciones se inocularon 100 µl en los medios de cultivo correspondientes. Para el conteo de bacterias mesófilas y psicrófilas las diluciones se inocularon en placas con agar PCA (Plate Count Agar, 105463, Merk®). Las placas para bacterias mesófilas

fueron incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 ± 2 h y las placas para bacterias psicrófilas se incubaron a $5 \pm 2^\circ\text{C}$ por 7 d (NOM-092-SSA1-1994).

El recuento de *E. coli* se realizó en un medio sólido, inoculando las diluciones de las muestras en agar MacConkey (CM0007, Oxoid®) e incubando las placas a $44 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 18 a 24 h (Valverde, 2003).

La inoculación de bacterias ácido lácticas se llevó a cabo en agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe, CM0361, Oxoid®) y las placas se incubaron a 25°C por 5 d.

Las pseudomonas fueron incubadas en placas de medio CFC (Cefalotina, Ácido Fusídico, Ceftrimida, CM 0559, Oxoid®) a una temperatura de 25°C por 48 h.

Para el conteo de Enterobacterias se inocularon placas con medio MacConkey (CM 0007, Oxoid®) por un periodo de 48 h a 25°C .

Los hongos y levaduras se incubaron en el medio RBC (Rose-Bengal Chloramphenicol, CM0549, Oxoid®) a 25°C por 5 d.

Para el recuento de *S. aureus* se inocularon placas con medio Baird Parker (255084, BD®, Heidelberg, Germany) a 25°C por 48 h (NOM-115-SSA1-1994).

Finalmente se realizó el conteo microbiano de cada caja Petri. Para calcular el número de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC

ml⁻¹) en el exudado de cada porción de carne de bovino se empleó la siguiente ecuación:

$$\frac{UFC}{ml} = P \cdot FD \cdot 10$$

donde:

P = Promedio de número de colonias en una dilución

FD = Factor de dilución, el cual depende de la dilución que se tomó

1 para 1:0	10000 para 1:10000
10 para 1:10	100000 para 1:100000
100 para 1:100	1000000 para 1:1000000
1000 para 1:1000	

Variables microbiológicas a evaluar

Para medir el crecimiento de las bacterias mesófilas, psicrófilas, pseudomonas, enterobacterias, hongos y levaduras, bacterias ácido lácticas, *E. coli* y *S. aureus* presentes en la carne se evaluó el número de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC ml⁻¹) en cada uno de los cuatro tiempos de muestreo. Cada valor obtenido en unidades formadoras de colonias por mililitro fue transformado a unidades de ciclos logarítmicos (Log₁₀); esta

transformación en ciclos logarítmicos se realiza para que los datos con asimetría positiva sean más normales y para estabilizar la variación.

Determinación de Oxidación de Lípidos

Para la evaluación del grado de oxidación se realizó la determinación de ácido tiobarbitúrico (TBA) reportado por Tarladgis *et al.* (1960). Se homogenizaron 10 g de muestra con 50 ml de agua destilada por 2 min, posteriormente se transfirieron a un matraz de destilación usando 47.5 ml de agua destilada y 2.5 ml de HCl 4N. Los matraces se ensamblaron en un aparato de destilación, hasta que se recuperó aproximadamente 50 ml de destilado. Con el destilado se prepararon alícuotas de 2.5 ml cada una y se adicionaron a tubos con 2.5 ml de reactivo de TBA, el cual se preparó disolviendo 0.721 g de ácido 2-tiobarbitúrico en agua destilada y aforando a 250 ml. Adicionalmente se preparó una curva estándar de 1,1,3,3-tetraetoxipropano. Primero se preparó una solución madre disolviendo 0.1 g de 1,1,3,3-tetraetoxipropano en 500 ml de agua destilada, para así tener una concentración de 200 mg/L. De la solución madre se tomó una alícuota de 25 ml, los cuales se disolvieron y aforaron en 100 ml de agua destilada para así tener una concentración de 50 mg/L. A partir de la solución de 50 mg/L se fueron tomando alícuotas de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 ml, las cuales se disolvieron en matraces de 50 ml; de ahí se tomaron 2.5 ml de cada dilución, los cuales se mezclaron con 2.5 ml de reactivo del TBA. Tanto las mezclas, como las diluciones para la curva estándar se calentaron en un baño de agua a ebullición durante 40 min. Simultáneamente a la reacción de

estas mezclas se prepararon dos blancos con 2.5 ml de agua destilada adicionada con 2.5mL del reactivo del TBA. Posteriormente los tubos se enfriaron, las lecturas de densidad óptica se realizaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25 (PerkinElmer Inc., EUA) a 531 nm. El número de ácido tiobarbitúrico se expresó en mg de malonaldehído/kg de muestra y fue calculado a partir de la curva estándar de 1,1,3,3-tetraetoxipropano, previamente mencionada. Para el Cálculo del índice de TBA se usa la siguiente fórmula:

$$\text{Índice TBA} = \frac{[50x(A-B)]}{M}$$

dónde:

A=Absorbancia de la muestra

B=Absorbancia del blanco

50= Factor aplicado si el matraz utilizado es de 25 ml y el ancho de cubetas de 10mm

M= Masa de la muestra en gramos

Análisis Estadístico

Los datos de las variables fisicoquímicas fueron analizados mediante un modelo para un diseño completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo, que incluyó como efectos fijos la aplicación de ultrasonido, el tiempo de almacenamiento y su posible interacción. Se utilizó el procedimiento MIXED del programa SAS[®] (SAS, 2003), ajustándose el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + U_i + T_j + U*T_{ij} + \varepsilon_{ijk},$$

donde:

Y_{ijk} = Variable respuesta, medida en la observación k para el periodo de exposición al ultrasonido i , en el tiempo de almacenamiento j ,

μ = Media general,

U_i = Efecto del periodo de exposición al ultrasonido i ($i = 0$ y 60 minutos),

T_j = Efecto del tiempo de almacenamiento j ($j = 0, 3, 6$ y 9 días),

$U*T_{(ij)}$ = Efecto de interacción entre el periodo de exposición al ultrasonido i y el tiempo de almacenamiento j ,

ε_{ijk} = Error aleatorio medido en la observación k para el periodo de exposición al ultrasonido i , en el tiempo de almacenamiento j .

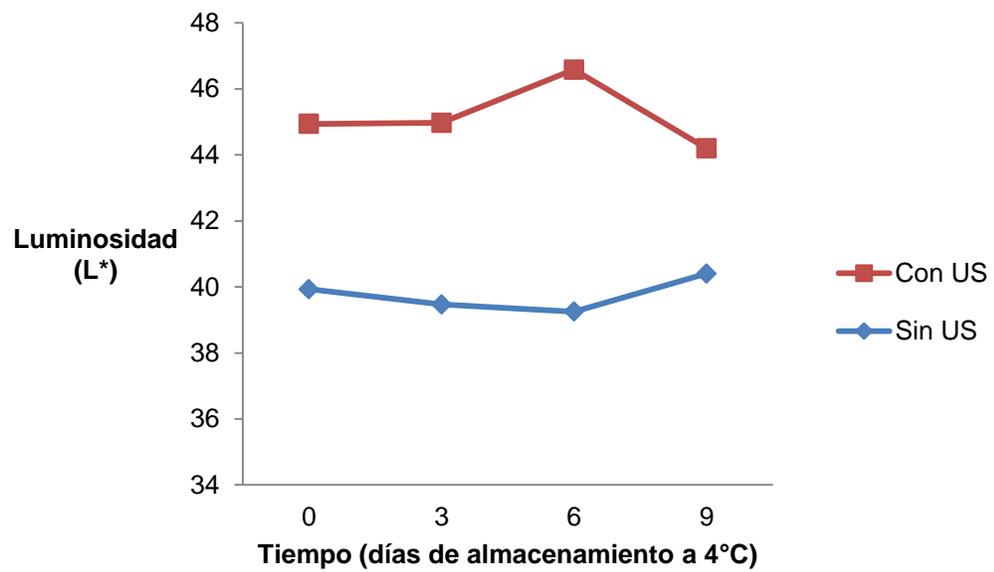
Para probar las diferencias entre medias de tratamiento y/o grupos de tratamientos se realizaron contrastes ortogonales, mediante la sentencia CONTRAST del SAS[®] (SAS, 2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del Ultrasonido sobre las Variables Fisicoquímicas en Carne de Bovino

Color

En la Gráfica 1 se observa que el ultrasonido incrementó ($p < 0.001$) los valores de luminosidad (L^*) de la carne sin existir efecto del tiempo de almacenamiento ($p = 0.4865$). El efecto en el color puede estar relacionado con el efecto del ultrasonido sobre los pigmentos musculares, ya que se ha señalado que quizá el tratamiento ultrasónico acelera cambios en el color limitando la formación de oximioglobina y acelerando la formación de metamioglobina (Stadnik y Dolatowski, 2011). También se han reportado cambios estructurales en las proteínas miofibrilares lo cual puede aumentar las tasas de exudado carne y de pérdida de agua (Chang *et al.*, 2015) lo que podría resultar en una carne más luminosa a la vista del ojo humano. La literatura en este tema presenta gran variabilidad. Por un lado, Pohlman *et al.* (1997) en carne sometida a ultrasonido ($22\text{W} / \text{cm}^2$) observó que la carne se tornaba menos luminosa, menos roja y más naranja (más grande ángulo de tono), pero menos brillante con respecto al control. Por su parte Lyng *et al.* (1997) y Lyng *et al.* (1998a) no observaron efecto en el color en carne de bovino tratada con ultrasonido (Lyng *et al.*, 1997; Lyng *et al.*, 1998a). En el presente estudio no se encontraron cambios significativos en luminosidad durante el almacenamiento. Esto indica que el ultrasonido ejerce su función inmediatamente después de su aplicación si



Gráfica 1. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.3497 error estándar) para la luminosidad (L^*) de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

cambios posteriores en la maduración de la carne. Estos resultados, son similares a los encontrados por Polhman *et al.* (1997) quien encontró que la luminosidad no presentó efecto significativo durante el tiempo de almacenamiento ($P>0.05$) con aplicación de ultrasonido. De la misma manera, estos resultados concuerdan con lo encontrado por Stadnik y Dolatowsky (2011) quienes reportaron valores más altos de luminosidad en muestras con tratamiento, como se encontró en este estudio.

En la carne el color puede verse influenciado por factores intrínsecos (tipo de músculo, raza, género, susceptibilidad al estrés) y extrínsecos (alimentación, estrés pre-sacrificio, reducción enzimática de la mioglobina, pH, temperatura, almacenamiento y oxidación) (Pérez, 2006). Asimismo del color de la carne depende de aspectos fisicoquímicos como el descenso de pH, ya que el color evoluciona desde el momento del sacrificio generado por la transformación de glucógeno en ácido láctico, el cual puede transformar las propiedades ópticas de la carne en un sólido opaco y claro (Judge *et al.*, 1989). Finalmente, es posible que en el presente estudio el ultrasonido podría haber presentado ruptura muscular como consecuencia de la alta intensidad lo cual favorecería la liberación de líquido intracelular, y al aumentar la cantidad de agua libre la carne se torna más luminosa y brillante (Alarcon-Rojo *et al.*, 2015).

En cuanto a los valores de a^* (tendencia al color rojo) existió efecto de del ultrasonido ($p<0.001$); y también se observó efecto ($p=0.0062$) a través del tiempo de almacenamiento. Los resultados muestran que la carne que fue

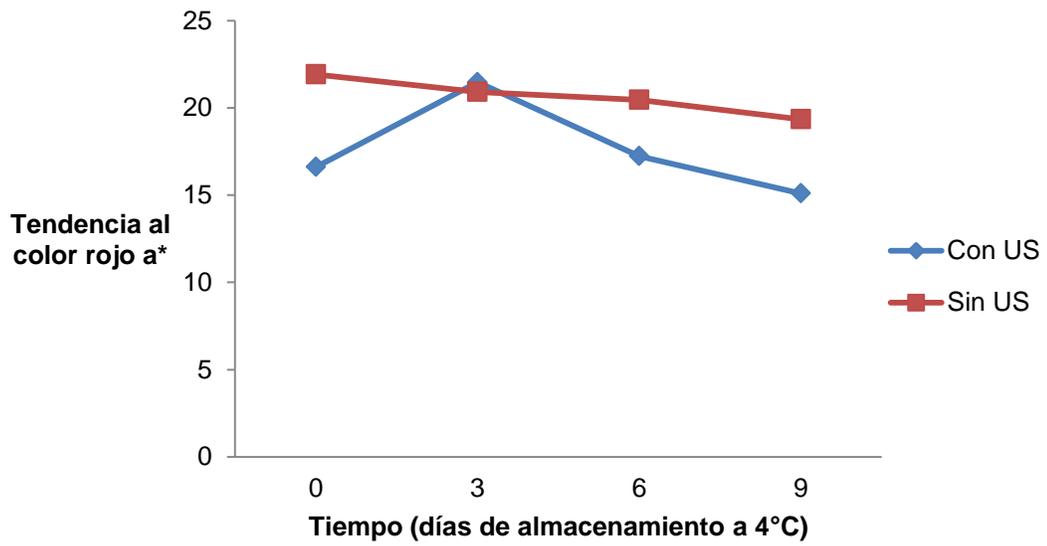
tratada con ultrasonido presentó valores menores de intensidad del color rojo (a^*) y ésta disminuye con el tiempo de almacenamiento (Gráfica 2). Las muestras sin aplicación de ultrasonido se mantuvieron más estables en el periodo de almacenamiento de los 0 a los 9 días, durante este tiempo el color disminuyó lentamente. Sin embargo las muestras tratadas con el ultrasonido se mostraron un poco más inestables, al día 0 presentó un valor más bajo que al día 3 y de ahí en adelante los valores siguieron disminuyendo. Es posible que este efecto esté correlacionado con los cambios estructurales producidos por el ultrasonido que pueden estar afectando las proteínas musculares y quizá este efecto se refleje en una disminución en la intensidad del color rojo (a^*).

Valores similares se encontraron en el estudio realizado por Caraveo *et al.* (2015), donde los valores de la intensidad de color rojo de carne tratada con ultrasonido fueron menores que los del control a través del tiempo. En investigaciones realizadas por Pohlman *et al.* (1997) se encontraron resultados similares en donde la tendencia al color rojo fue disminuyendo a través de los días de almacenamiento de 1 a 10 días y se observó que la carne presentó coloraciones naranjas ocasionadas por la disminución de los valores de a^* en muestras tratadas con ultrasonido de alta intensidad. Sin embargo, otros autores (Stadnik y Dolatowsky, 2011) han observado efectos inversos en muestras tratadas con ultrasonido donde los valores de a^* fueron aumentando a través del tiempo de almacenamiento, o bien, no cambiaron (Chang *et al.*, 2012) al aplicar ultrasonido de potencia (40 kHz, 1500 W) a músculo *Semitendinosus*

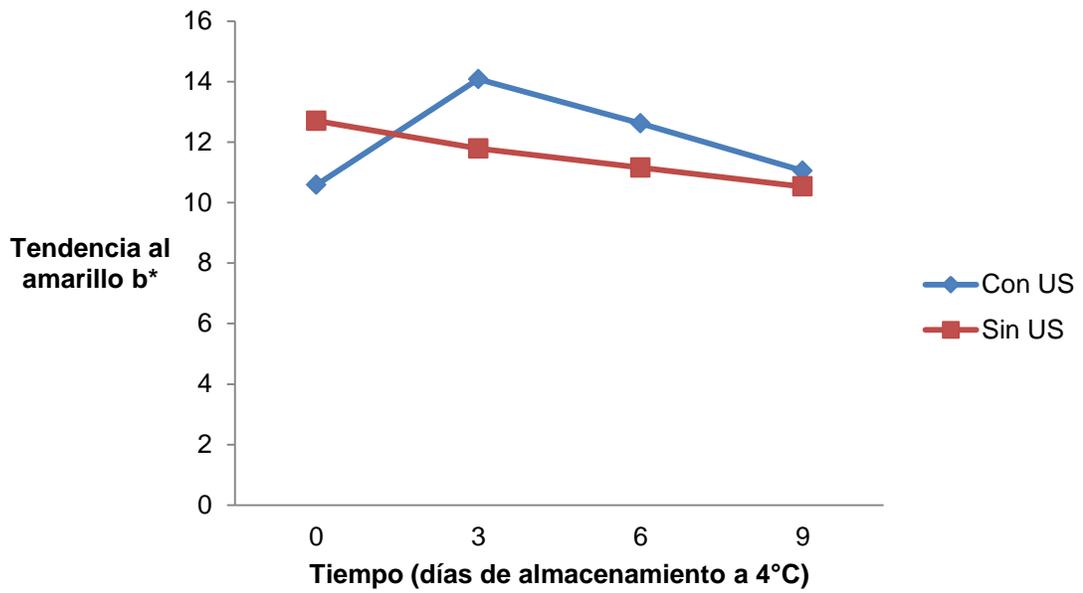
bovino por 10, 20, 30, 40, 50, y 60 min permaneciendo los valores de a^* igual al control.

Especialmente, se observa como para los valores de a^* , en el día 3, se muestra un valor muy similar para muestras tratadas con ultrasonido y control, en este punto, ambas muestras presentan valores más altos de a^* , posiblemente por lo que se comentó anteriormente, el proceso de *blooming* tal vez en este tiempo de almacenamiento no se llevó a cabo de manera suficiente, pudo haberle faltado tiempo y ocasionó las variaciones en los valores que se elevaron en el día 3 de almacenamiento, posteriormente en los días 6 y 9, los valores de a^* disminuyeron, como es normal que suceda cuando la carne se almacena por un determinado tiempo.

En la Gráfica 3 se muestran los resultados en la tendencia al color amarillo (b^*) por efecto de ultrasonido en carne de bovino. Aunque no existió efecto global del ultrasonido ($p= 0.2544$) se muestra un efecto de interacción con el tiempo de almacenamiento lo que indica que el efecto ocurre sólo en ciertos tiempos específicos de almacenamiento ($p=0.0091$). Se muestra un patrón similar en b^* al de los valores encontrados para a^* , se observó que la muestra control presentó valores más estables de b^* y su valor fue disminuyendo a través del tiempo de almacenamiento, lo cual no ocurrió con muestra tratada con ultrasonido, los valores fueron más variables, esto puede ser ocasionado debido a que la carne se coloca en el baño ultrasónico en presencia de agua destilada, y como consecuencia, la carne pudo liberar



Gráfica 2. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.4551 error estándar) para la tendencia al color rojo (a^*) de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.



Gráfica 3. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.02458 error estándar) para la tendencia al color amarillo (b^*) del músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

algunos de sus pigmentos al agua, lo que ocasiona una mayor variabilidad en los resultados, comparándola con las muestras control.

En el estudio realizado por Pohlman *et al.* (1997) se encontró que los valores de b^* aumentaron ($p < 0.05$) a través de los días de almacenamiento, lo que indica que el músculo se fue haciendo más amarillo a través del tiempo, estos valores obtenidos en el estudio, resultan diferentes a lo encontrado en esta investigación.

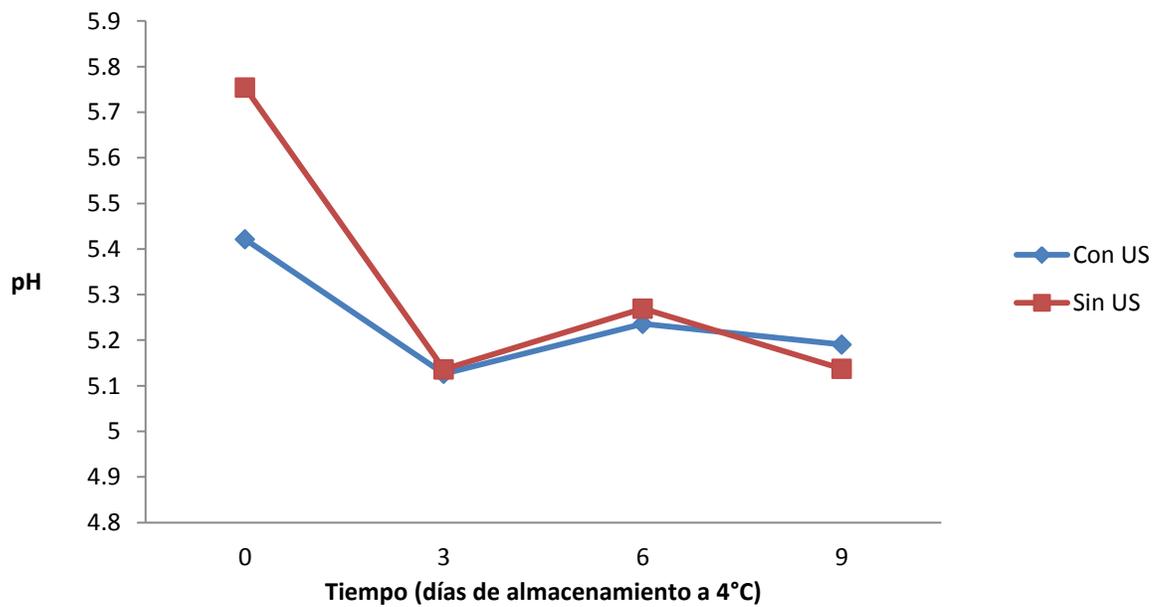
Tang *et al.* (2006) mencionan que con la aplicación de ultrasonido, se afecta negativamente el color de la carne. La mayoría de los estudios en los que se analizó el color en carne tratada con ultrasonido, no presentó cambios significativos. Otros autores indican que la aplicación de ultrasonido de alta intensidad en carne cambia los parámetros de color, más bajos valores de luminosidad (L^*), menor intensidad al color rojo (a^*), mayor tendencia al amarillo (b^*), consideran que estos cambios son ocasionados debido al aumento de temperatura durante el tratamiento con ultrasonido (Gambuteanu y Alexe, 2013).

Se considera importante dilucidar claramente el efecto de la radiación ultrasónica en las propiedades de color de la carne ya que la percepción del color juega un rol muy importante en la evaluación de la carne y sus

cambios pueden ser trascendentales en el aspecto económico.

pH

Se observó efecto de tratamiento ($p=0.0107$) en el pH de la carne, la muestra control presentó valores más altos de pH en comparación con las muestras tratadas con ultrasonido con efecto ($p<0.001$) a través del tiempo de almacenamiento a 4°C (Gráfica 4). El pH de la carne ultrasonicada disminuye aceleradamente y a los tres días de almacenamiento el pH es igual entre las muestras tratadas y el control permaneciendo así durante la maduración. En general la literatura en este tema indica que el ultrasonido no tiene efecto marcado en pH o es casi mínimo. Por ejemplo, Dolatowski *et al.* (2000) no encontraron diferencias significativas en el pH por efecto de ultrasonido (25 kHz y 2 W/cm² por 2 min) de alta intensidad, utilizando el músculo *semimembranoso*, pero únicamente mencionan que fueron animales jóvenes no especificando la edad y un peso aproximado de 450 a 500 kg en peso vivo. En otro estudio, Stadnik y Dolatowsky (2011) reportaron diferencias significativas en valores de pH en muestras tratadas y no tratadas con ultrasonido de alta intensidad, el estudio se realizó en el músculo *semimembranoso*, en animales de 24 a 30 meses de edad, la frecuencia usada fue de 45 kHz y 2 W/cm² de intensidad en un tiempo de 2 min, posiblemente las diferencias con el presente estudio se deban a las diferencias entre intensidades y frecuencias o probablemente porque en este estudio y en el mencionado con anterioridad, el tratamiento aplicado fue por 2 min únicamente y en esta investigación se aplicó un tiempo de 60 min de sonicado.



Gráfica 4. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.02458 error estándar) para el pH de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

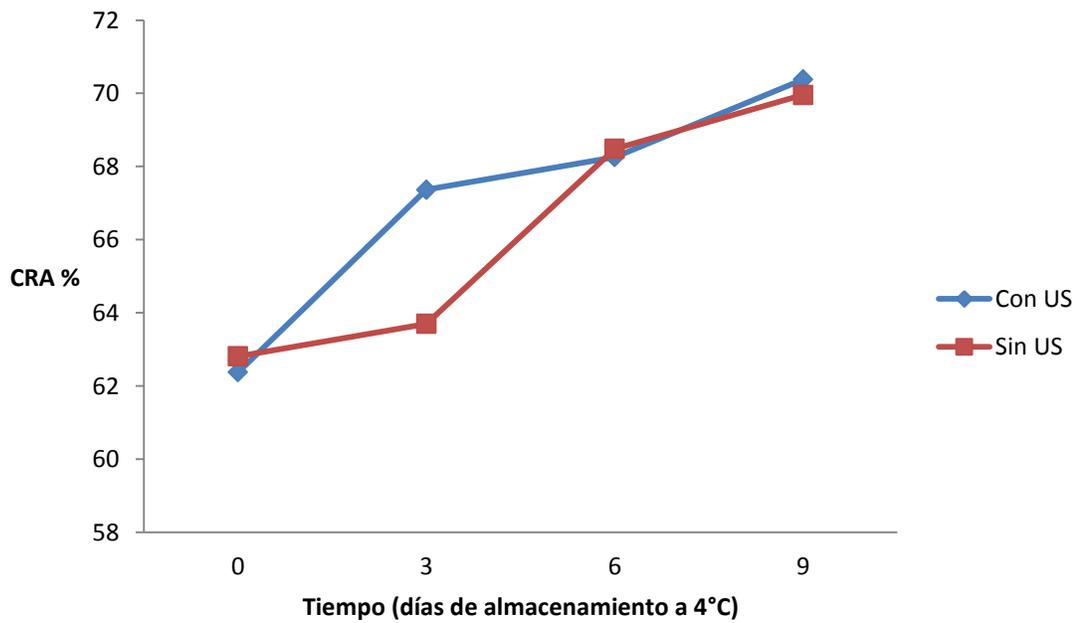
Jayasooriya *et al.* (2007) encontraron que los valores de pH aumentaron significativamente en muestras que fueron tratadas con ultrasonido, aumentando los valores conforme avanza el tiempo de almacenamiento. Terán-Acuña *et al.* (2015) encontraron que el pH disminuyó de manera proporcional de acuerdo a los tiempos de exposición que fueron de 30, 45 y 60 min, lo que quiere decir, que la muestra que se trató con 60 minutos de ultrasonido tuvo valores más bajos de pH, en promedio 5.83. Ellos mencionan que este comportamiento se atribuye a la disociación de las moléculas de agua de producto de la sonólisis, la cual libera iones hidrogeniones al medio ocasionando que disminuya el pH. También mencionan que estos cambios pudieran ser ocasionados debido a que en los procesos *postmortem*, el tejido muscular de la especie bovina ocasionan que el glucógeno se metabolice en ácido láctico, haciendo que la carne presente disminuciones de pH hasta valores finales de 5.4 a 5.8 después de 24 h *postmortem*. Al comparar este valor final de pH con el obtenido tras 60 min de tratamiento con ultrasonido, se pudo evidenciar que la tecnología usada acelera el descenso del pH, con lo que el pH final se alcanza en menos tiempo, sin embargo se menciona que los cambios en pH pueden depender de varios factores como el tiempo de almacenamiento, tipo de músculo y tiempo de tratamiento. Gambuteanu y Alexe (2013) no encontraron diferencias significativas de pH en las muestras control y las tratadas con ultrasonido, los valores reportados fueron alrededor de 5.7 y 5.8. Las condiciones que se usaron en este estudio fueron una frecuencia de 25 kHz y una intensidad de 0.2 W/cm² y 0.4 W/cm². Ellos trabajaron con carne de cerdo en el músculo *Longissimus dorsi*. En otro estudio Gambuteanu *et al.*

(2013), mencionan que el efecto del ultrasonido no tiene influencia en el pH, aunque otros autores indican que el pH si se ve afectado por la aplicación de ultrasonido. Por otro lado, en el caso de la edad de carne de vacuno, se observa que el pH aumentó conforme aumenta el tiempo de envejecimiento y con la aplicación de ultrasonido de alta intensidad. Además los autores mencionan que estos cambios en el aumento de pH podrían explicarse por cambios conformacionales asociados con la desnaturalización de las proteínas, por el tratamiento de ultrasonido y por la degradación proteolítica de las fibras musculares.

Capacidad de retención de agua (CRA)

En la Gráfica 5 se observa que la aplicación de ultrasonido no incrementó los valores de CRA ($p=0.1589$) sin embargo este parámetro fue aumentando a través del tiempo ($p<0.001$). Estos resultados indican que la capacidad de retención de agua aumenta conforme pasan los días de almacenamiento y no hay diferencia en este parámetro en muestras tratadas con ultrasonido y muestras control.

Se infiere que el incremento en el porcentaje de agua retirada por compresión, se debe al fenómeno de cavitación producto de la aplicación de ultrasonido, ya que este genera gradientes de temperatura y compresión y descompresión alternativa del material, produciendo microcanales en las interfaces del material lo que permite la movilidad del agua.



Gráfica 5. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.4731 error estándar) para la capacidad de retención de agua de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

La capacidad de retención de agua es una característica de calidad de la carne y con influencia en el rubro económico; por lo tanto, es importante el análisis de este parámetro cuando se aplican tratamientos como el ultrasonido (Gambuteanu *et al.*, 2013).

Los resultados obtenidos en el presente estudio son positivos, ya que no reflejan disminución en la CRA de la carne tratada aún y cuando se pueda haber modificado la estructura miofibrilar que tuvo como resultado una pérdida de color rojo e incremento en la luminosidad. Es posible que los cambios que originaron esos efectos no son suficientemente significativos para causar disminución en la CRA de la carne tratada. Resultados similares fueron reportados por otros autores (Dolatowski *et al.*, 2007; Pohlman *et al.*, 1997; Stadnik *et al.*, 2008), quienes encontraron valores similares en carne en etapa avanzada *postmortem*. Se sugiere un incremento en la tasa de maduración debido a la influencia del ultrasonido en cambios estructurales de las proteínas miofibrilares lo cual se puede reflejar en un incremento en la capacidad de éstas para unir agua por efecto del aumento en el pH de la carne como fue observado en el presente estudio.

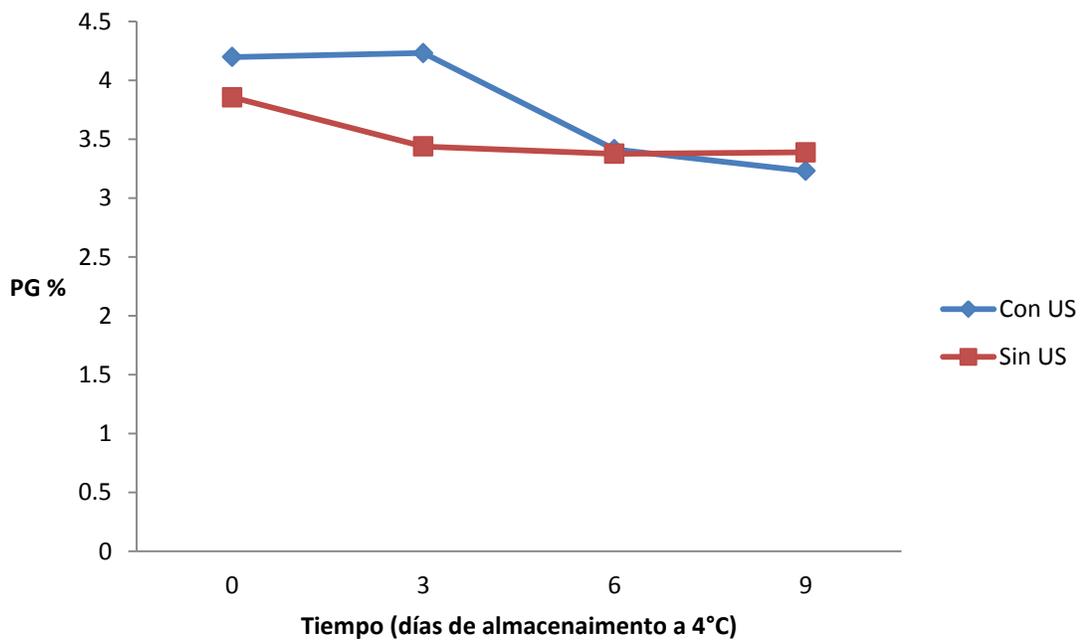
En un estudio realizado por Stadnik y Dolatowsky (2011) se encontraron resultados contrarios donde indican que la capacidad de retención de agua disminuye en muestras que fueron tratadas con ultrasonido de alta intensidad comparándolas con las muestras control, sin embargo se comporta de manera similar a través de los días de almacenamiento ya que el valor de CRA aumenta conforme pasa el tiempo al igual que en nuestros resultados. Terán-Acuña *et al.*

(2015) se encontró que la CRA no presentó cambios estadísticamente significativos, estos autores mencionan que la humedad fue la que si presentó una disminución significativa debido a la cavitación producida por las ondas de ultrasonido, lo cual genera una micro evaporación del agua. Las condiciones a las cuales se trabajó en este estudio fueron una frecuencia de 25 kHz, durante tiempos de exposición de 30, 45 y 60 min.

En su reporte, Gambuteanu *et al.* (2013) enfatizan que las variaciones en la CRA son el resultado de cambios en las proteínas miofibrilares y ellos mencionan que los cambios en las estructuras de las proteínas de carne por efecto de las ondas ultrasónicas podrían estar acelerando el envejecimiento de la carne.

Pérdida por goteo (PG)

Se encontró efecto de tratamiento ultrasónico ($p=0.0187$) en la pérdida por goteo de la carne, ya que ésta presentó valores más altos en el control con efecto a través del tiempo, la PG fue disminuyendo ($p<0.001$) al transcurrir los días de almacenamiento (Gráfica 6). Los valores de la pérdida por goteo fueron disminuyendo a través de los días de almacenamiento tanto en muestras control y tratadas con ultrasonido, las muestras tratadas con ultrasonido presentan valores más altos de pérdida por goteo, sin embargo, estos valores fueron muy similares entre ambos tratamientos el día 6 de almacenamiento y para en el día 9, las muestras control presentaron mayor pérdida por goteo



Gráfica 6. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.1209 error estándar) para la pérdida por goteo de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

que las muestras tratadas con ultrasonido.

Estos resultados concuerdan con el incremento en la capacidad de retención de agua (CRA) observada en los tratamientos ya que hay una relación inversa entre CRA y PG, resultados similares a los encontrados por Caraveo *et al.* (2014). Los resultados inversos indican que al aumentar la CRA, los valores de PG fueron disminuyendo a través de los días de almacenamiento como se observar en la Gráfica 6. La CRA aumentó y la PG fue disminuyendo, esto se puede observar ya que las muestras tanto control como tratadas con ultrasonido de alta intensidad fueron perdiendo menor cantidad de agua en el almacenamiento, de tal manera que el día 3 las muestras tuvieron la mayor pérdida de líquido y conforme transcurrió el tiempo la PG disminuyó para presentar valores iguales entre carne tratada y control al final del almacenamiento.

Esto significa, que cuando la capacidad de retención de agua (CRA) es alta, las pérdidas por goteo (PG) van a ser menores durante el almacenamiento debido a la menor superficie de exudación. Otros autores indican que las pérdidas por goteo son distintas en los músculos *Semitendinosus* y *Longissimus Lomborum*, sin diferencias significativas entre muestras tratadas con ultrasonido y muestras control (Jayasooriya *et al.*, 2007). La pérdida por goteo al igual que muchas características de la carne se encuentra estrechamente relacionada con la CRA y es definida como la solución roja acuosa de proteínas que emerge encima de la superficie del corte muscular en un periodo de tiempo de horas o días. La pérdida de agua por goteo solamente mide el exudado de agua

extracelular de la carne (Morón-Fuenmayor y Zamorano García, 2004, 2004). La PG se mide para determinar las mejores condiciones de refrigeración, congelación, envasado y almacenado de la carne. Un 4 al 5% del agua total del músculo está en forma ligada esto quiere decir que permanece fuertemente unida, incluso cuando se aplica fuerza mecánica sobre el músculo. El agua inmovilizada son moléculas acuosas que se atraen subsiguientemente por las moléculas ligadas en capas, cada vez más débiles a medida que su distancia es mayor del grupo reactivo de la proteína y esta inmovilización también depende de la cantidad de fuerza ejercida físicamente sobre el músculo (Lawrie y Ledward, 2006). Numerosos factores influyen en el número de grupos reactivos de las proteínas y su capacidad para ligar el agua, tal condición es en gran parte consecuencia de los cambios *postmortem* y esto depende de la producción del ácido láctico, pérdida del ATP, la instauración del *rigor mortis* y cambios en la estructura celular asociada a las actividades proteolítica enzimática.

Un factor importante en la pérdida de agua de la carne se da durante el proceso del *rigor mortis*. Mientras se presenta un pH alto se obtendrá mayor CRA pero si sucede lo contrario tendremos más pérdida del agua; por eso es importante el control del estrés durante el sacrificio y posterior a éste, además se tiene que controlar el descenso de la temperatura y el pH para evitar este tipo de situaciones.

Dentro de la industria una de las formas de poder obtener una mejor retención de agua es la implementación del curado en el cual se utiliza el

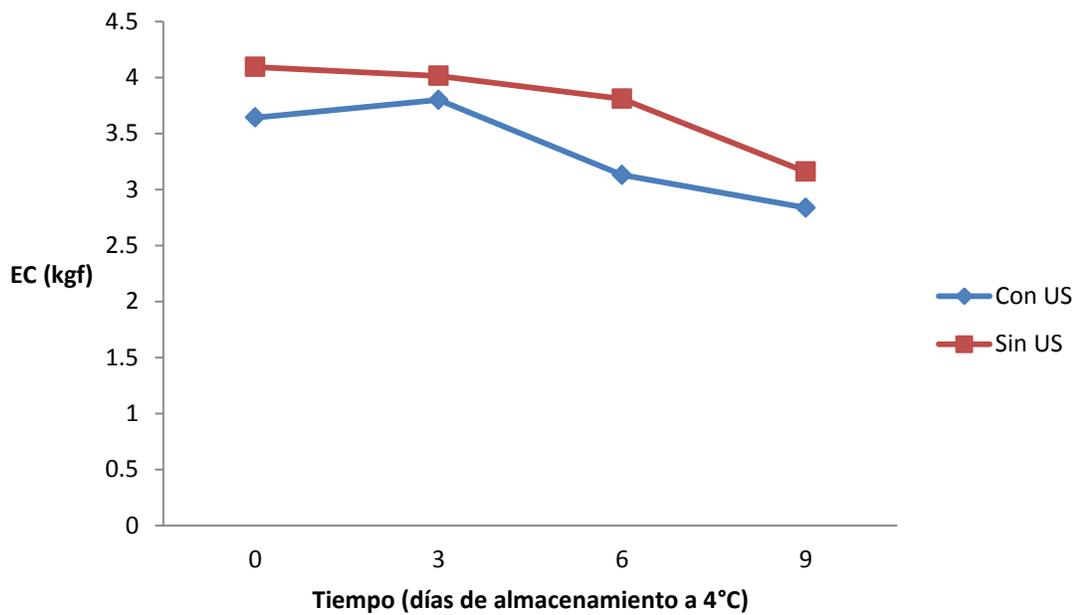
cloruro de sodio (NaCl) y polifosfatos que tienen la función de mantener los iones específicos dentro la estructura muscular y, consecuentemente, el agua.

Esfuerzo de corte (EC)

En la presente investigación no se observó efecto de tratamiento ($p=0.0867$) sobre el esfuerzo de corte de la carne, pero si hubo efecto durante el almacenamiento, ya que el EC fue disminuyendo ($p<0.001$) a través del tiempo de almacenamiento o maduración (Gráfica 7). Posiblemente en este estudio no fue posible observar ningún efecto estadístico en la blandura de la carne por la aplicación del ultrasonido debido a que la intensidad aplicadas a la carne no fue suficientemente altas para ejercer disrupción estructural en la carne, ya que otros autores sí han reportado efectos.

Otra razón por la cual no se observó efecto podría ser porque la dureza de la carne era mayor que el efecto ablandador que pudiera ejercer el ultrasonido. Es conocido que existe una diferencia marcada en cuanto a terneza de la carne de ganado *Bos indicus* y *Bos taurus*. Conforme se incrementa la proporción de *Bos indicus* en las cruza, la terneza de la carne de res tiende a disminuir y se incrementa la variabilidad de la terneza. Se ha establecido que la carne de ganado *Bos indicus* es más dura debido a los niveles más bajos de grasa intramuscular y contenidos más altos de tejido conectivo al compararlo con ganado *Bos taurus*.

Wheeler *et al.* (1990) demostraron que el ganado *Bos indicus* tiene niveles más bajos de μ -calpaina (enzima proteolítica dependiente de Ca^{2+}) y niveles de calpastatina (proteína inhibidora de las calpainas) más elevados y



Gráfica 7. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.1042 error estándar) para el esfuerzo de corte (EC) de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

concluyeron que la actividad de la calpaína (la cual es modulada por la calpastatina), parece jugar el principal papel en las diferencias de terneza inherentes entre las razas *Bos indicus* y *Bos taurus*.

Cuando se utiliza el ultrasonido a bajas frecuencias y altas intensidades se ha observado una mejora en la blandura de la carne sin comprometer otros parámetros de calidad como se demostró cuando se aplicó una intensidad de 12 Wcm^{-1} y una frecuencia de 24 kHz a muestras de carne cruda por 4 min. Los autores observaron que se redujo significativamente la fuerza y la dureza de la carne debido a la fragmentación de las macromoléculas de colágeno y su desnaturalización a menor temperatura (Jayasooriya *et al.*, 2004, 2007). Además, se reporta la degradación de proteínas con un peso molecular superior a 20-25 kDa induciendo un incremento en la disponibilidad del sistema calpaína y de los contenidos lisosomales, lo que sugiere un efecto en la terneza (Jayasooriya *et al.*, 2007). Stadnik y Dolatowsky (2011) también reportaron que la terneza de la carne mejora con la aplicación del ultrasonido de alta intensidad, disminuyendo sus valores comparados con la muestra control a través del tiempo de almacenamiento.

La calidad de la carne depende del aroma, sabor, apariencia, blandura y jugosidad. El comportamiento del consumidor ha demostrado que la blandura es el factor de palatabilidad más importante en la determinación de la calidad de la carne (Smith *et al.*, 1991). Técnicamente el ultrasonido puede actuar de dos maneras en el tejido cárnico: mediante la ruptura de la integridad de las células musculares o mejorando las reacciones enzimáticas (Boistier-Marquis *et al.*,

1999). Algunos autores (Jayasooriya *et al.*, 2004), afirman que una exposición prolongada a las ondas ultrasónicas de alta intensidad ocasionan un ablandamiento significativo de la carne, sin embargo, varios autores no han logrado corroborar este efecto (Lyng *et al.*, 1997; Lyng *et al.*, 1998a; Lyng *et al.*, 1998b) al igual que en la presente investigación.

Ellos aplicaron el ultrasonido en carne de bovino (Lyng *et al.*, 1997; Lyng *et al.*, 1998a) y en carne de cordero (Lyng *et al.*, 1998b) al usar intensidades de 62 Wcm^{-2} por períodos de 15 seg y después de 1, 3 y 14 días de maduración. Sin encontrar cambios en dureza de la carne, fuerza de masticación, características sensoriales, solubilidad del colágeno y proteólisis miofibrilar.

La investigación presentada por Got *et al.*, (1999), con músculo *Semimembranosus* tratado con ultrasonido (2.6 MHz; 10 Wcm^{-2} ; 2 x 15 s) antes del *rigor mortis* (día 0, pH 6.2) o *post rigor* (días 1, pH 5,4) mostró efecto solamente en la aplicación *pre rigor*. En este tratamiento se observó una mayor elongación de los sarcómero con alteración ultraestructural en la región de la línea Z y un aumento en el calcio del citosol, pero no se observó efecto cuando el ultrasonido se aplicó *post rigor*.

También se han reportado efectos del ultrasonido en el colágeno de la carne. Chang *et al.* (2012) observaron que al aplicar ultrasonido de potencia (40 kHz, 1500 W) a músculo *Semitendinosus* bovino por 10, 20, 30, 40, 50, y 60 min disminuyó el diámetro de la fibra muscular sin efectos en el contenido de colágeno insoluble por calor, pero presentó un efecto en la estabilidad térmica y características del colágeno así como en la textura de la carne. Este efecto lo atribuyeron a un incremento en la actividad de la β -galactosidasa y β -

glucuronidasa entre las muestras tratadas con ultrasonido.

La hipótesis de que el ultrasonido causa disrupción mecánica y ablandamiento del músculo también ha sido corroborado en pechuga de gallina ultrasonicada (24 KHz por 15 seg a 12 Wcm^{-2}) y almacenada a 4 °C durante 0, 1, 3, y 7 días. Los resultados sugieren que el ultrasonido y las proteasas endógenas contribuyeron a la degradación muscular, se registró un aumento en la blandura de la carne y una disminución en la pérdida por cocinado (Xiong *et al.*, 2012).

La tecnología del ofrece características potenciales para lograr ablandar sin alterar la apariencia que se produce con algunos otros tratamientos ya que la aplicación ultrasónica puede dañar las paredes y membranas celulares y desnaturalizar las proteínas por medio de la pulsación de las burbujas, la cavitación y la formación de radicales libres, incluyendo la fragmentación del colágeno. Gómez-Díaz y López-Malo (2009) observaron que el ultrasonido de alta intensidad aplicado en carne de bovino cocinada a 75°C, presentó ablandamiento. Ellos señalan que este efecto se podría considerar como una consecuencia de la cavitación acústica y la aparición de burbujas producidas por las fuerzas hidrodinámicas las cuales afectan la integridad de la estructura muscular.

A pesar de que en el presente estudio no hubo diferencias significativas en esfuerzo de corte entre muestras control y tratadas con ultrasonido, es importante mencionar que todos los valores de EC de la carne ultrasonicada fueron matemáticamente inferiores a los de la carne control, indicando una ligera tendencia al ablandamiento de la carne por efecto del ultrasonido.

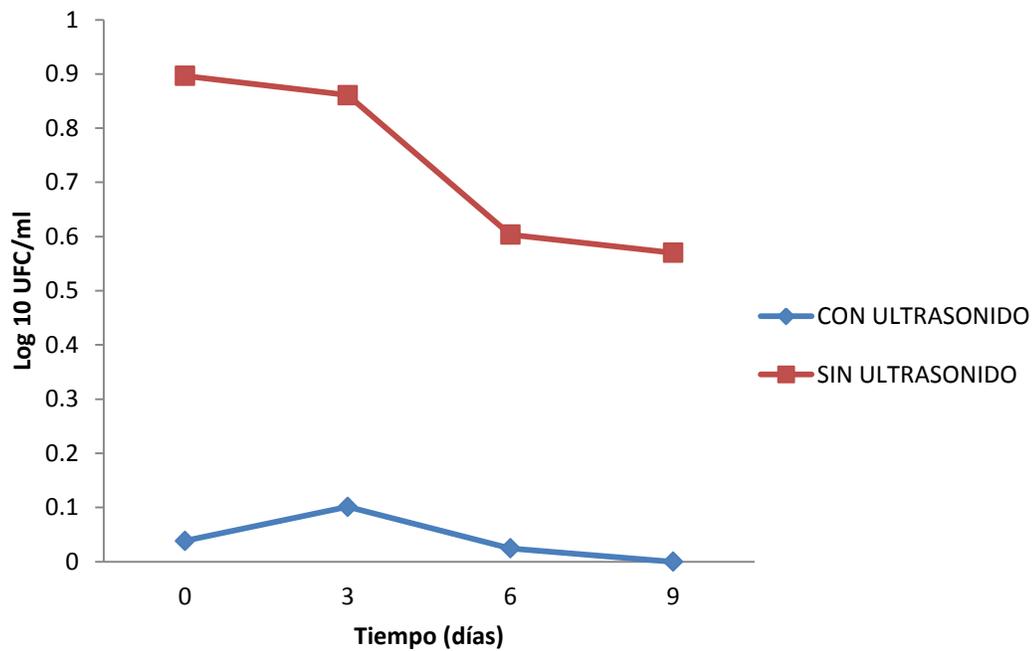
Además, quizá al modificar factores como la frecuencia e intensidad de la sonicación, se pudieran observar los efectos esperados sobre la blandura de la carne de bovino.

Efecto del Ultrasonido sobre las Características Microbiológicas de la Carne de Bovino

En el presente estudio se realizaron pruebas microbiológicas en la carne de bovino para determinar el efecto del ultrasonido sobre *Stafilococcus aureus*, bacterias coliformes, hongos y levaduras, bacterias mesófilas y psicrófilas. El ultrasonido tiene diversas aplicaciones en la industria alimentaria, incluida la muerte o la inhibición de las bacterias. Históricamente, la eficacia del ultrasonido en la inactivación de las células bacterianas se ha visto limitada por la protección otorgada a los organismos por el medio ambiente alimentario. En la actualidad, los ultrasonidos son investigados en combinación con otras tecnologías para intentar alcanzar la letalidad microbiológica de una pasteurización y sin llegar a degradar las características organolépticas.

Stafilococcus aureus

Se encontró que hay diferencias significativas en las cuentas (UFC/ml) de *Stafilococcus aureus* ($p < 0.001$) por efecto de la aplicación de ultrasonido y durante el tiempo de almacenamiento por 0, 3, 6 y 9 días. Como se observa en la Gráfica 8, las muestras que fueron tratadas con ultrasonido de alta intensidad, presentan valores (UFC/ml) más bajos en comparación con las muestras control.



Gráfica 8. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.08050 error estándar) del crecimiento de *Staphylococcus aureus* de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

El uso de ultrasonido es una tecnología no térmica la cual contribuye a incrementar la seguridad microbiológica, prolongar la vida de anaquel, sobre todo en alimentos sensibles al calor y mejorar las características nutricionales y funcionales. El ultrasonido de alta potencia dentro del rango de frecuencia de 20 a 100 kHz y de la intensidad energética de 10 a 100 Wcm^{-1} genera gradientes de intensa presión que pueden alterar la estructura de las bacterias en los alimentos. La eficacia del tratamiento depende más de la intensidad de la onda de la frecuencia y a medida que aumenta la frecuencia el efecto se reduce (Sykes, 1965).

El efecto del ultrasonido en los microorganismos es complejo, pero la alteración de las membranas celulares y las cadenas de ADN se cree que es el principal responsable del efecto letal. Las tecnologías de descontaminación con ultrasonido aplicadas en canales, puede reducir los conteos microbiológicos por aproximadamente de uno a tres logaritmos de UFC/cm², bajo condiciones apropiadas. Mencionan que la aplicación de ultrasonido de alta intensidad es una herramienta potencial para reducir microorganismos en las aves de corral, carne de bovino y puerco. Sin embargo indican que el ultrasonido por sí solo no reduce los microorganismos en un número considerable, sino que hay que combinarlo con otros métodos antimicrobianos como hipoclorito, calor medio, presión, vapor o ácido orgánico (Turantas *et al.*, 2015).

El mecanismo del ultrasonido para matar microorganismos es principalmente debido al adelgazamiento de las membranas celulares, calor y producción de radicales libres.

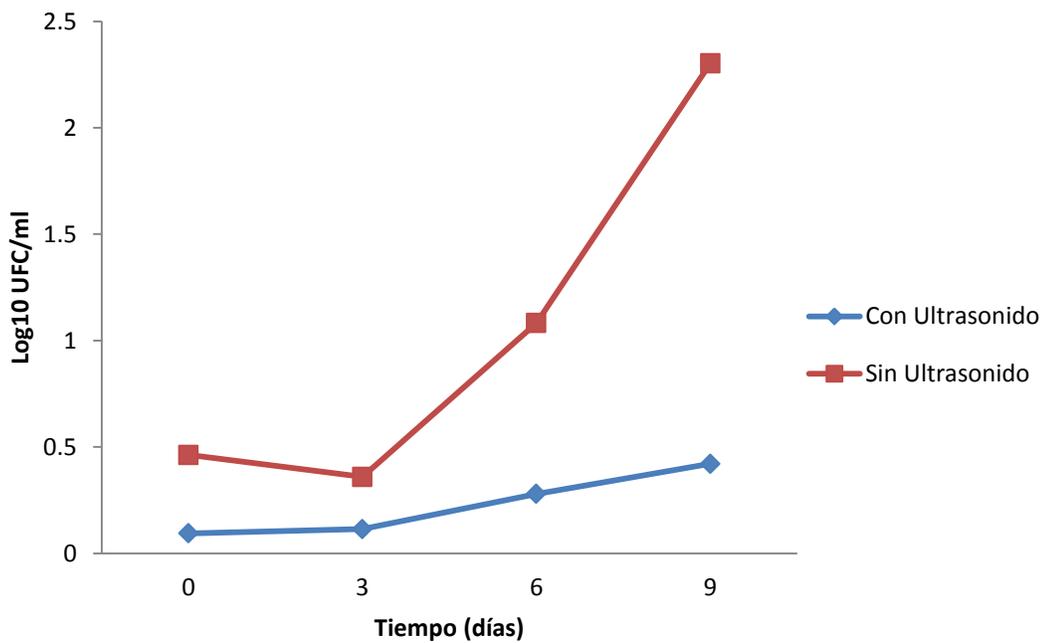
La efectividad del tratamiento de ultrasonido depende del tipo de bacteria tratada, en el caso de los *Stafilococcus aureus* de este experimento tuvo un efecto positivo contra esa bacteria en donde se pudo llevar a cabo el adelgazamiento de las membranas celulares con la subsiguiente muerte celular.

Coliformes

En la Gráfica 9 se observan diferencias en las cuentas coliformes ($p < 0.001$) de la carne con y sin ultrasonido así como durante el tiempo (0, 6 y 9 días) de almacenamiento. Los tres primeros días de almacenamiento no se presentaron diferencias entre las muestras tratadas y no tratadas, pero posteriormente las diferencias fueron mayores indicando que el ultrasonido presentó un efecto inhibitor de coliformes muy considerable.

En el presente estudio, las bacterias coliformes fueron de las más afectadas por el tratamiento de ultrasonido tanto inmediatamente después de la aplicación como durante el almacenamiento en refrigeración, ya que se vio un efecto en la disminución durante el almacenamiento.

Durante el proceso de sonificación, las ondas longitudinales son creadas cuando la onda sónica pasa a través del medio líquido y crea alternativamente regiones de cambio de presión (compresión y expansión). En estas regiones se produce la cavitación, que causa un efecto bactericida debido a la formación y a la ruptura de las burbujas de gas microscópicas. Si la onda sonora suministrada no es suficiente para retener la fase de gas en la burbuja se produce una condensación rápida y provoca choques micro-mecánicos que



Gráfica 9. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.0958 error estándar) del crecimiento de bacterias coliformes de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

conlleven a un aumento de temperatura y presión, un cambio en los componentes estructurales y en las funciones celulares hasta el punto de producir la lisis o la muerte celular (Awad *et al.*, 2012; Pingret *et al.*, 2013).

La eficacia del tratamiento de ultrasonido depende del tipo de bacterias. Las esporas son relativamente resistentes a los efectos y es por ello que se necesitaran periodos más largos de tratamiento para obtener un producto más seguro o aplicar más presión, temperatura o algún producto que produzca alguna variación de pH. Otros efectos a considerar importantes en la reducción microbiana por ultrasonidos son el colapso de las burbujas que producen incrementos de temperatura (5000 °C) y presión (500 MPa) en puntos localizados y la sonólisis que forma radicales libres muy oxidantes (Piyasena *et al.*, 2003).

La susceptibilidad al ultrasonido puede variar entre diferentes microorganismos. Las bacterias gram-negativas son más susceptibles a la inactivación que las gram-positivas ya que estas poseen una pared celular mucho más gruesa. También, por lo general, las bacterias más largas o más grandes son más sensibles, posiblemente, por la mayor superficie de contacto (Gao *et al.*, 2014). La tasa de mortalidad es altamente dependiente de la frecuencia de ultrasonido, amplitud de la onda y el volumen de concentración bacteriana. Frecuencias alrededor de 20 kHz son eficientes en la inactivación microbiana, pero las esporas y las bacterias gram-positivas resisten más a esta frecuencia. Además, se ha encontrado variación de efectividad entre diferentes cepas bacterianas. Estudios sobre la letalidad en *Yersinia enterocolitica*,

Salmonella y Escherichia coli en tratamientos que combinaban los ultrasonidos con presión y temperatura, dieron bajas reducciones microbiológicas a presión y temperatura ambiente, pero el efecto se incrementaba a medida que la presión y/o la temperatura aumentaba (Awad *et al.*, 2012).

Terán-Acuña *et al.* (2015) analizaron carne de bovinos machos entre los 4 y 5 años de edad con 12 h *postmortem*, fueron sonicadas a una frecuencia de 25 kHz por tiempos de 30, 45 y 60 min, no indican la intensidad utilizada. Los resultados muestran que hubo efectos significativos sobre la disminución de coliformes sobre el músculo, llegando a la inactivación microbiana con resultados favorables tras periodos de exposición de 60 min. Similar al presente trabajo, Caraveo *et al.* (2015) encontraron disminución significativas en los conteos de coliformes por efecto del tratamiento de ultrasonido y por el tiempo de almacenamiento. Ellos señalaron que la técnica de aplicación de ultrasonido fue muy efectiva en la reducción de coliformes totales, ya sea cuando es aplicado a la carne por 60 o 90 min, presentando una reducción aproximada de tres y cuatro ciclos logarítmicos respectivamente.

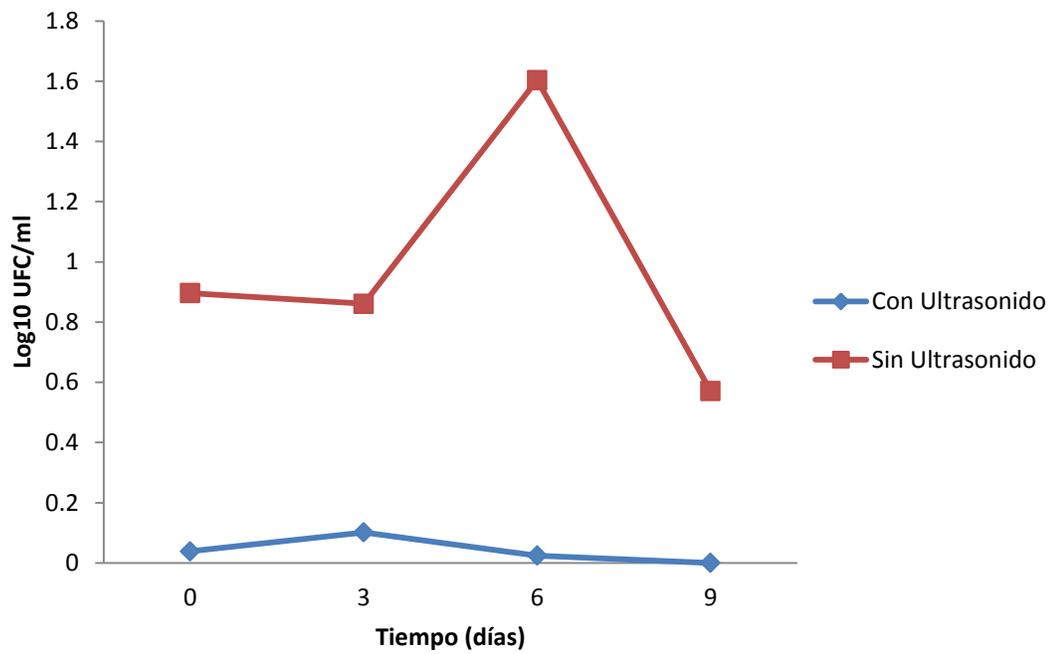
Nazari y Jochen (2010) reportan niveles de inhibición del 81% en jarabe de frutas cuando fueron tratadas con ultrasonido. Joyce *et al.* (2011) indican que las bacterias coliformes presentan una alta sensibilidad a los tratamientos de ultrasonido a 20 y 40 kHz de frecuencia, observando una alta disminución microbiológica en los conteos finales después de la aplicación de ultrasonido. Drakopolou *et al.* (2009) mencionan que el efecto del ultrasonido de alta intensidad sobre *E.coli* depende directamente de la temperatura a la cual se

lleva a cabo el experimento. A una temperatura de 25 °C o menor, la efectividad del ultrasonido disminuye, mientras que a altas temperaturas la eliminación de bacterias se mantiene constante por el efecto de ultrasonido.

Bacterias mesófilas

En la Gráfica 10 se observan diferencias significativas ($p < 0.001$) en las cuentas de mesófilos entre tratamientos, las muestras tratadas con ultrasonido presentan valores mucho más bajos que las muestras control. En muestras tratadas con ultrasonido de alta intensidad, los valores de UFC/ml fueron disminuyendo a través de los días de almacenamiento, lo que indica que el ultrasonido de alta intensidad disminuye la cantidad de bacterias mesófilas de la carne fresca inmediatamente después de la ultrasonicación y durante el almacenamiento.

El ultrasonido es una tecnología reciente que reduce el nivel inicial de poblaciones de microorganismos. Entre estos microorganismos, podemos encontrar a los patógenos, de gran interés e importancia en la microbiología de alimentos y el impacto en la seguridad alimentaria (Bermúdez-Aguirre *et al.*, 2011). Las ondas ultrasónicas tienen un poder antimicrobiano debido a que provocan un aumento en la energía cinética de las moléculas (Fitzgerald *et al.*, 2004), particularmente, la inactivación de la carga microbiana se debe al efecto letal del ultrasonido de potencia y al fenómeno de cavitación, el cual genera altas presiones y altas temperaturas que conduce a la formación de radicales libres que pueden producir oxidación de los fosfolípidos que componen las



Gráfica 10. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.0805 error estándar) del crecimiento de bacterias mesófilas de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

membranas celulares de los microorganismos, y en consecuencia la posterior inactivación de las células bacterianas.

Previamente se reportó que la ultrasonificación del músculo de bovinos machos entre los 4 y 5 años de edad a las 12 h *postmortem* produjo efectos significativos sobre la disminución de bacterias mesófilas del músculo, llegando a la inactivación microbiana con resultados favorables tras periodos de exposición de 60 min (Terán-Acuña *et al.*, 2015).

Este efecto ha sido corroborado por otras investigaciones (Antoniadis *et al.*, 2007; Bhaskaracharya *et al.*, 2009; Cameron, 2007; Dolatowski *et al.*, 2007). Además se ha reportado que la manipulación de microorganismos con ultrasonido va en relación de la frecuencia de la resonancia de las microburbujas que se forman con la cavitación, ya que observaron que los microorganismos se pegan a los límites de las burbujas, permaneciendo ahí durante el tratamiento y después de pasado el efecto de ultrasonido, recobrar su movimiento. Debido a esto entre una mayor frecuencia y potencia del ultrasonido y un tiempo razonable de tratamiento habrá una reducción de microorganismos (Porrás *et al.*, 2004). Similarmente, un estudio con carne cruda masajeadas con ultrasonido de alta intensidad antes y después de la inyección de salmuera (Dolatowski y Stasiak, 2002) mostró que el ultrasonido reduce significativamente la carga microbiana sobre todo de bacterias aeróbicas las cuales presentaron una sensibilidad importante al tratamiento. De la misma manera, Haughton *et al.* (2010) y Piñón *et al.* (2015) mostraron que en carne

de pollo el conteo total de bacterias mesófilas disminuye después de la aplicación de ultrasonido.

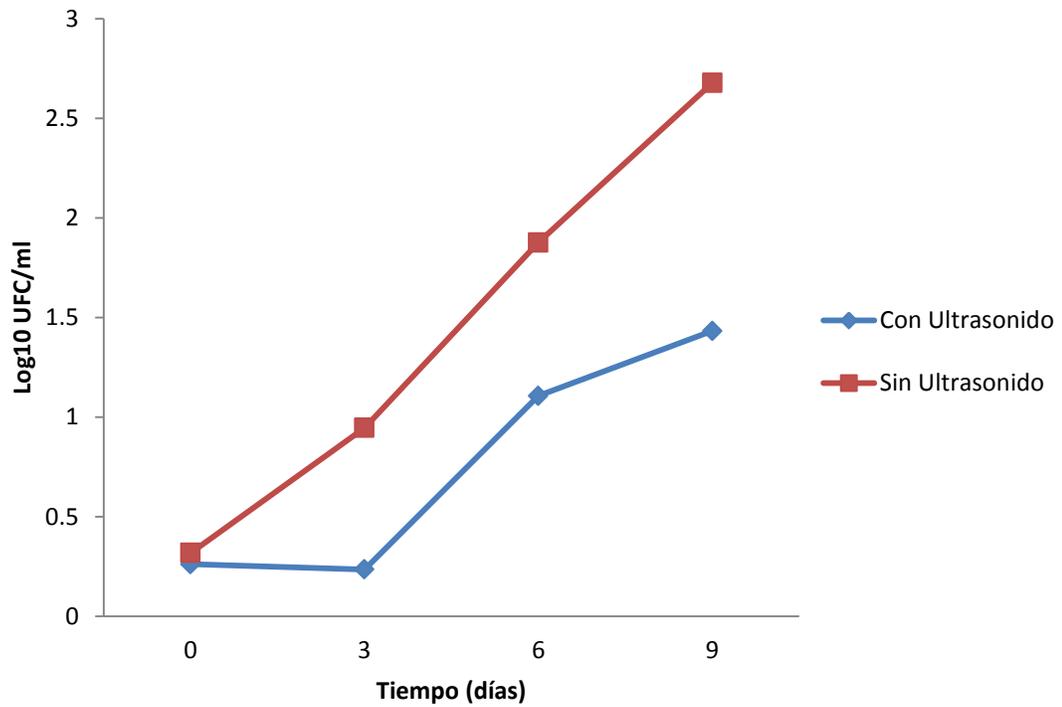
Sin embargo, la capacidad del ultrasonido para controlar el crecimiento de microorganismos depende de múltiples factores como el equipo, la intensidad y la frecuencia aplicada en cada tratamiento (Antoniadis *et al.*, 2007; Cameron, 2007; Dolatowski *et al.*, 2007; Baskaracharya *et al.*, 2009; Joyce *et al.*, 2011), consideraciones que se deben tomar en cuenta a la hora de la aplicación del tratamiento ultrasónico

Bacterias psicrófilas

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.001$) entre las muestras de carne de bovino tratadas con ultrasonido y el control. Las muestras ultrasonificadas presentaron valores más bajos que las muestras control, a excepción del día 0 en donde no hay diferencia entre tratamientos (Gráfica 11).

Estos resultados están acorde con lo encontrado por Caraveo *et al.* (2015), donde encontraron que las muestras control presentaron valores más altos de UFC/ml en comparación con las muestras tratadas con ultrasonido de alta intensidad. Mencionan que este tipo de bacterias mostraron una mayor disminución que otro tipo de bacterias como las mesófilas.

Sin embargo, estos resultados se contraponen con lo obtenido por otros autores, como Vilku *et al.* (2008) en donde se menciona que el ultrasonido es un método eficiente para la extracción de diversos componentes en los alimentos y esto puede contribuir al crecimiento de microorganismos en este



Gráfica 11. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.1052 error estándar) del crecimiento de bacterias psicrófilas de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

caso de las bacterias psicrófilas. Dolatowsky y Stasiak (2002) reportan que en muestras tratadas con ultrasonido y que se almacenan en refrigeración, no se presenta una disminución importante de bacterias. De igual manera, Boerema *et al.* (2007) y Suárez *et al.* (2008), también indican que algunas bacterias psicrófilas crecen con facilidad en alimentos empacados al vacío y que se almacenan en refrigeración.

La responsable del efecto antimicrobial del ultrasonido de alta intensidad es la cavitación. Las burbujas de gas formadas en el medio, hacen que se llegue a un momento donde la energía ultrasónica que se provee no es suficiente para retener el vapor en la burbuja y se provoca la condensación (Gómez-Díaz y López-Malo, 2009 Awad *et al.*, 2012). Las moléculas condensadas chocan violentamente creando ondas, dichas ondas crean regiones de alta temperatura y presión. Dichos choques actúan sobre ciertos componentes estructurales y funcionales celulares hasta el punto de provocar la lisis celular.

Ciertos microorganismos pueden ser más susceptibles al tratamiento con ultrasonido que otros. Se ha visto que las células largas o más grandes son las sensibles a la aplicación de ultrasonido de alta intensidad. Con el incremento en el área de superficie, las células de mayor tamaño son bombardeadas por la presión producida por la cavitación. Como parte del mecanismo de acción, tanto el calor como las ondas de choque por cavitación o ambos, pueden ser los responsables del efecto letal de la aplicación del ultrasonido de alta intensidad. En el presente estudio se encontró un efecto en la reducción de

microorganismos en carne de bovino, lo que nos indica que el ultrasonido de alta intensidad puede ser usado como una alternativa para la conservación de los alimentos sin usar tecnologías más agresivas como el calor que nos puede dañar el alimento.

Una característica importante es el tiempo de aplicación del tratamiento ultrasónico (Rodríguez-Calleja *et al.*, 2006; Kalantar *et al.*, 2010), se ha reportado que el efecto bactericida del ultrasonido aumenta con el tiempo de aplicación y que cuando éste es de 30 min o menos, los niveles microbianos se reducen inmediatamente, pero el efecto desaparece durante el almacenamiento en refrigeración ((Pohlman *et al.*, 1997).

Algunos autores (Boerema *et al.*, 2007; Suárez *et al.*, 2008) señalan que algunos organismos psicrófilos crecen fácilmente en productos que son empacados al vacío y almacenados en refrigeración. Sams y Feria (1991) propusieron que este fenómeno se debe a la liberación de nutrientes de la carne sometida a ultrasonificación incluyendo el agua del material tratado (Fuente *et al.*, 2004) aumentando así la disponibilidad de los nutrientes para las bacterias. Sin embargo, en el presente estudio sí se encontró efecto del ultrasonido en las bacterias psicrófilas y éste fue permanente a lo largo de todo el tiempo de almacenamiento en refrigeración ya que se observaron valores por debajo de las muestras control en todos los tiempos de almacenamiento, siendo al tiempo 0 de almacenamiento donde se registraron los valores mas bajos mostrando una tendencia a incrementarse en los últimos días del

almacenamiento, pero aun así, las muestras tratadas con ultrasonido tuvieron valores por debajo de la muestra control.

Los múltiples beneficios conferidos por el ultrasonido de alta intensidad han permitido su utilización en áreas muy distintas. Una de las de mayor interés dentro de la industria de alimentos es su aplicación como agente antimicrobiano. El efecto del ultrasonido sobre las bacterias depende de múltiples factores, sin embargo no se conoce por completo su modo de acción. Es necesario el desarrollo de más investigaciones que ayuden a explicar el comportamiento de los microorganismos frente a las ondas de ultrasonido, ya que las teorías existentes quizás no puedan ser aplicadas en todos los casos.

Es necesario continuar investigando el tema para poder determinar los niveles de intensidad, exposición al ultrasonido y duración de la aplicación sobre el conteo microbiano. Es difícil establecer los límites entre todas estas hipótesis y, probablemente, la inactivación microbiana se produzca como consecuencia de una mezcla de los mecanismos anteriores.

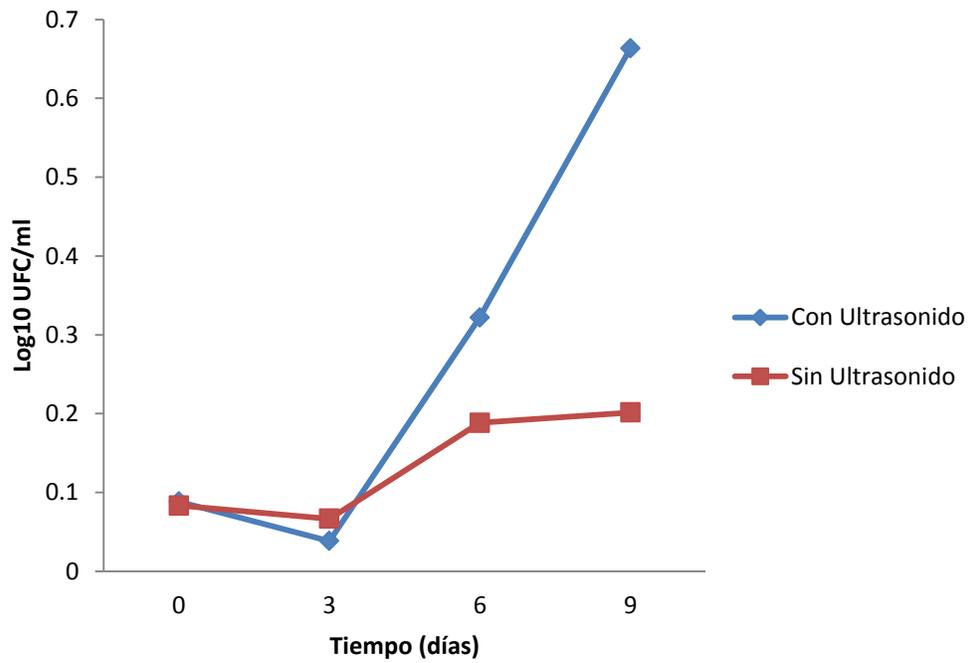
A pesar de los efectos favorables observados por el ultrasonido sobre los microbios, el ultrasonido por sí solo no es suficientemente efectivo para inactivar los microorganismos presentes en la carne, por lo que debe combinarse con otros factores que aumenten de forma considerable la inactivación microbiana. Se ha comprobado que cuando el ultrasonido se combina con niveles moderados de presión, temperatura, o ambos, hay un efecto letal sobre los microorganismos sin que se presenten alteraciones

considerables de la características físicas, químicas y/o sensoriales del alimento (Mañas y Pagán, 2005). Otros factores que podrían tener actividad sinérgica con el ultrasonido son la reducción de pH, actividad de agua, y la adición de agentes antimicrobianos tales como nanopartículas de zinc o de plata, entre otros.

Hongos y levaduras

En la Gráfica 12 se observan los resultados en las cuentas de hongos y levaduras por efecto del ultrasonido. Solo se presentan diferencias significativas ($p < 0.001$) al día 9 de almacenamiento dando valores más altos para las muestras tratadas con ultrasonido que en las no tratadas. El número de UFC/ml fue aumentando a través del tiempo de almacenamiento con diferencias significativas entre muestras control y tratadas con ultrasonido de alta intensidad. Se observa que tanto en el día 6 con el 9 los valores son mayores que las muestras control, únicamente el día 3 las muestras tratadas con ultrasonido presentaron un conteo ligeramente más alto que el control.

Fue evidente que el ultrasonido es una metodología muy eficaz para bajar las cuentas de hongos y levaduras de la carne fresca de bovino y este efecto perdura durante el almacenamiento. La teoría principal sobre como el ultrasonido de alta intensidad provoca la muerte de los microorganismos se basa precisamente en el fenómeno de la cavitación (Cameron, 2007). Sin embargo, es importante mencionar que las altas intensidades de ultrasonido son más eficaces que las bajas, ya que se ha visto que el ultrasonido de baja intensidad no produce el daño celular necesario para la eliminación de



Gráfica 12. Medias de los cuadrados mínimos (± 0.0362 error estándar) del crecimiento de hongos y levaduras de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

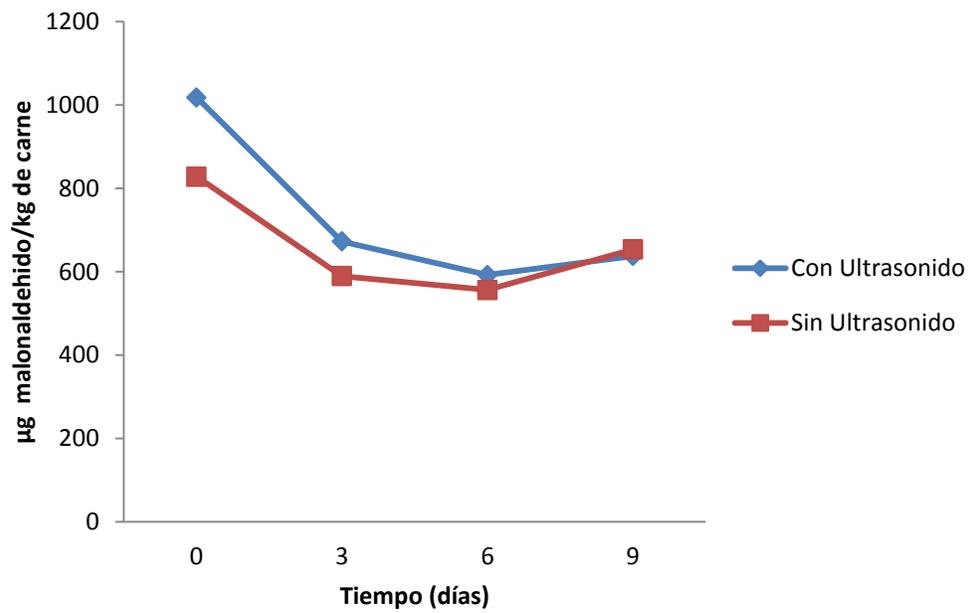
microorganismos debido a la poca formación de burbujas ocasionadas por la cavitación (Jørgensen *et al.*, 2008).

Efecto del Ultrasonido sobre la Oxidación de Lípidos en Carne de Bovino

No se presentó efecto de la aplicación de ultrasonido sobre la oxidación de ácidos grasos ($p=0.1782$) de la carne de bovino, pero sí por almacenamiento, ya que la oxidación disminuyó con la maduración de la carne durante los 9 días de almacenamiento en refrigeración. Este es un efecto muy favorable, ya que permite asegurar que es posible aplicar ultrasonido a carne de res sin alterar la calidad oxidativa de los lípidos (Gráfica 13).

Previamente había sido señalado por Stadnik *et al.*, (2008) que la sonicación puede ser un método eficaz para mejorar las propiedades tecnológicas del músculo sin efecto en la oxidación de lípidos. También Stadnik, (2009) al analizar muestras tratadas con ultrasonido (45 kHz, 2 W/cm² por 120 seg) y almacenadas en refrigeración, reportan valores de sustancias reactivas al ácido-2-tiobarbitúico (TBA) que no comprometen la estabilidad oxidativa de la carne.

Contrariamente, otros autores han reportado que el ultrasonido además de fragmentar el colágeno deteriora la membrana celular y promueve la formación de radicales libres (Kuijpers *et al.*, 2002). En consecuencia, intensifica la oxidación de la carne durante el tratamiento con ultrasonido, por el incremento en la velocidad de las reacciones químicas (Awad *et al.*, 2012). Sin embargo, estos efectos no fueron observados en la presente investigación.



Gráfica 13. Efecto del ultrasonido sobre la oxidación de músculo *Semitendinosus* de bovino durante el almacenamiento a 4°C con y sin aplicación de ultrasonido de potencia.

Al evaluar la influencia del tratamiento de ultrasonido en la estabilidad oxidativa de la carne de vacuno en *Semimembranosus* bovino durante la maduración, Stadnik y Dolatowski (2008) observaron mínimas diferencias en la velocidad y el grado de oxidación de lípidos por efecto del ultrasonido en carne madurada. Este estudio demuestra que la ultrasonicación, en conjunción con el almacenamiento refrigerado, puede ser un método eficaz para mejorar las propiedades tecnológicas de carne de vacuno sin comprometer su estabilidad oxidativa.

Tampoco se ha presentado efecto del ultrasonido en productos cárnicos procesados. Cichoski *et al.* (2015) evaluaron salchichas para hot dog adquiridas en un local comercial con diversos ingredientes, entre ellos carne de pollo, pavo y bovino, los resultados obtenidos indican que no hay efecto significativo en el nivel de TBA, en muestras tratadas con ultrasonido y muestras control, sin embargo, observaron que al día 60 de almacenamiento los valores de malonaldehído aumentaron en los dos tratamientos, pero las muestras tratadas con ultrasonido presentaron valores más bajos que las muestras control. Las variables que usaron fueron una frecuencia de 25 kHz y 200 W y pasteurizaron al mismo tiempo que sonicaron a una temperatura de 74°C por 10.5 min. Condiciones diferentes a las que se usaron en esta investigación, por lo que tal vez a esto se deban las diferencias encontradas con este estudio, además que se trabajó con un producto cárnico procesado.

McDonnell *et al.* (2014) analizaron carne de cerdo curada y tratada con ultrasonido para reducir el tiempo de procesado, encontraron que la aplicación

del ultrasonido de alta intensidad no tiene efecto significativo en el aumento de la oxidación de lípidos en la carne, sin embargo, los valores de TBA a través del tiempo de almacenamiento, fueron mayores en tratamientos con aplicación de ultrasonido de alta intensidad, comparadas con las muestras control. Ellos concluyen que a pesar de que los valores de oxidación fueron mayores en muestras tratadas con ultrasonido de alta intensidad, esto no afecta los atributos de calidad de la carne de cerdo.

Es importante mencionar que en el presente estudio se utilizó una frecuencia de ultrasonido de 40 kHz y una potencia de 11 W/cm^2 , así como rebanadas de carne de 2.5 cm de grosor y un tiempo de sonicado de 60 min. Diferentes tipos de músculos de bovino y por lo general los tiempos de sonicado de los demás estudios son menores al aplicado en esta investigación. Otra de las variables que puede causar efecto en las diferencias encontradas son los tiempos de almacenamiento de la carne, en este estudio se realizaron mediciones del día 0, 3, 6 y 9 días y en cada uno se realizó medición de oxidación, hay estudios en los que el tiempo de almacenamiento fue de hasta 60 d, lo cual hace difícil la comparación entre estudios.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- Se concluye que el ultrasonido aplicado por 60 min a carne de bovino aumenta la luminosidad y disminuye la intensidad de color rojo en el almacenamiento. Además el ultrasonido disminuye el pH, y aumenta la capacidad de retención de agua inmediatamente después de su aplicación aunque se iguala con el control en el almacenamiento. La carne sonicada tiene menores pérdidas por goteo sin efecto en la oxidación de lípidos durante la refrigeración, por lo que se puede afirmar que el ultrasonido no tiene efectos desfavorables en la calidad fisicoquímica de la carne.
- El esfuerzo de corte no se afectó significativamente con el ultrasonido, sin embargo, se recomienda continuar realizando investigación para ser más contundentes en torno al efecto del ultrasonido como mejorador en la terneza de la carne.
- El ultrasonido usado a una frecuencia de 40 kHz y una intensidad de 11 W/cm² aplicado por 60 min presenta efectos inmediatos sobre las cargas de coliformes totales, *Stafilococcus aureus*, mesófilos, psicrófilos y hongos y levaduras. Esto es de importancia para la carne refrigerada indicando que el tratamiento con ultrasonido puede ayudar a mantener la carne en refrigeración a 4 °C en buenas condiciones por más tiempo en almacenamiento.
- El ultrasonido de alta intensidad representa una alternativa para controlar, primordialmente, el crecimiento de bacterias psicrófilas y

coliformes en carne de bovino almacenada a 4°C, sin afectar las propiedades de calidad de la carne que son de gran interés tanto para la industria cárnica como para el consumidor.

- El ultrasonido puede ser una alternativa para la conservación de carne ya que ayuda a reducir el número de microorganismos presentes y con ello evitar el deterioro de la carne sin efectos negativos en la calidad fisicoquímica; por lo tanto, se demostró que el ultrasonido es una tecnología emergente que puede aportar beneficios en el procesamiento y la conservación de la carne.
- Se recomienda combinar el ultrasonido con otras tecnologías de potencial antimicrobiano con la finalidad de controlar con mayor eficacia el crecimiento de patógenos en la carne de bovino sin afectar otros parámetros de calidad.
- Se recomienda investigar la aplicación del ultrasonido en cortes cárnicos de mayor volumen con la finalidad de escalar la implementación de esta tecnología a nivel industrial.

LITERATURA CITADA

- Alarcón-Rojo, A. D., H. Janacua, J. C. Rodríguez, L. Paniwnyk y T. J. Mason. 2015. Power Ultrasound in meat processing. *Meat Sci.* 107: 86-93.
- Amador, L. R., E. E. Rendón y R. R. Montaña. 1993. Manual de laboratorio de microbiología sanitaria. 2a ed. IPN-ENCB. México.
- Antoniadis, A., I. Poullos, E. Nikolakaki y D. Mantzavinos. 2007. Sonochemical disinfection of municipal wastewater. *J. Hazard. Mat.* 146: 492-795.
- Awad, T. S., H. A. Moharram, O. E. Shaltout, D. Asker y M.M. Youssef. 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Res. Int.* 48: 410-427.
- Balaban, N. y A. Rasooly. 2000. Staphylococcal enterotoxins. *Int. J. Food Microbiol.* 61:1-10.
- Bermúdez-Aguirre, D., T. Mobbs y G. V. Barbosa-Cánovas. 2011. *Ultrasound Applications in Food Processing*. Food Engineering Series. Springer New York.
- Bhaskaracharya, R. K., S. Kentish y M. Ashokkumar. 2009. Selected applications of ultrasonics in food processing. *J. Food Eng. Rev.* 1: 31-49.
- Boerema, J., D. Broda, N. Penney y G. Brightwell. 2007. Influence of peroxyacetic acid-based carcass rinse on the onset of "blown pack" spoilage in artificially inoculated vacuum-packed chilled beef. *J. Food Prot.* 70:1434-1439
- Boistier-Marquis, E., Lagsir-Oulahal, N. y Callard, M. 1999. Applications des ultrasons de puissances en industries alimentaires. *Industries Alimentaires et Agricoles.* 116, 23- 31.
- Cameron, M. 2007. Impact of low-frequency high-power ultrasound on spoilage and potentially pathogenic dairy microbes. Doctor of Philosophy in Food Science dissertation. Faculty of AgriSciences. University of Stellenbosch. Stellenbosch. Sudafrica.
- Caraveo, O., A. D. Alarcón-Rojo, A. Rentería, E. Santellano y L. Paniwnyk. 2015. Physicochemical and microbiological characteristics of beef treated with high-intensity ultrasound and stored at 4°C. *J. Sci. Food Agric.* 95: 2487-2493.
- Cárcel, J. A., J. V. García-Pérez., J. Benedito y A. Mulet. 2011. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. *J. Food Eng.* 110: 200-207.

- Chandrapala J. 2015. Low intensity ultrasound applications on food systems. *International Food Research Journal* 22:888-895.
- Chang, H., Q. Wang, C. H. Tang y G. H. Zhou. 2015. Effects of ultrasound treatment on connective tissue collagen and meat quality of beef semitendinosus muscle. *J. Food Qual.* 38:256–267.
- Chang, H-J., X-L.Xu, G-H. Zhou, Ch-B. Li y M. Huang. 2012. Effects of characteristics changes of collagen on meat physicochemical properties of beef semitendinosus muscle during ultrasonic processing. *Food Biopro. Technol.* 5:285–297.
- Chemat, F., V. Tomao y M. Viot. 2008. Ultrasound-Assisted Extraction in Food Analysis. *Handbook of Food Analysis Instruments.*
- Chemat, F., Z. Huma y M. K. Khan. 2011. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonoch.* 18:813-835.
- Cichoski, A. J., C. Rampelotto, M. S. Silva, H. C. Moura, N. N. Terra, R. Wagner, C. R. Menezes, E. M. Moraes y J. S. Barín. 2015. Ultrasound-assisted post-packaging pasteurization of sausages. *Innov. Food Sci. Emer. Tech.* 30:132-137.
- Davies, A y R. Board. 1998. *The Microbiology of Meat and Poultry.* Blackie Academic and Professional, London, UK.
- Dolatowski, Z. J. y J. Twarda. 2004. Einfluss von ultraschall auf das wasserbindungsvermögen von rindfleisch. *Fleischwirt.* 12:95–99.
- Dolatowski, Z. J., D. M. Stasiak y A. Latoch. 2000. Effect of ultrasound processing of meat before freezing on its texture after thawing. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities.* Volumen 3 (2). En: <http://www.ejpau.media.pl>. Consultado 12 Agosto 2014.
- Dolatowski, Z. J., J. Stadnik y D. Stasiak. 2007. Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 6(3):89-99.
- Dolatowski, Z. y D. Stasiak. 2002. Bacterial contamination of meat and meat products after ultrasound treatment. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 1:55-65.
- Drakopoulou, S., S. Terzakis, M. S. Fountoulakis, D. Mantzavinos y T. Manios. 2009. Ultrasound-induced inactivation of gram-negative and gram-positive bacteria in secondary treated municipal wastewater. *Ultrason. Sonochem.* 16:629–634.

- Ercolini, D., F. Russo y A. Nasi. 2009. Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potential in vitro and in beef. *Applied and Environmental microbiology*. 75(7), 1990–2001. doi:10.1128/AEM.02762-08.
- Farrell, G. M. y M. E. Upton. 1978. The effect of low temperature on the growth and survival of *Stafilococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* when inoculated into bacon. *J. Food Technol.* 13:15-23.
- Fitzgerald, D. J., M. Stratford, M. J. Gasson, J. Vekert, A. Bos y A. Narbad. 2004. Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Listeria innocua*. *J. Appl. Microb.* 97(1):104-113.
- Forsythe, J. (2003). *Alimentos seguros: Microbiología*. España: Acribia.
- Fuente, S., G. Rodríguez, E. Riera, J. Gallego y A. Mulet. 2004. Desarrollo de un sistema de secado mediante lecho fluido asistido por ultrasonidos de potencia. *Revista de Acústica* 36(1-2):19-24.
- Gallego-Juárez, J. A. 2010. High-power ultrasonic processing: recent developments and prospective advances. *Physics Procedia*, 3, 35-47. International Congress on Ultrasonics, Santiago de Chile.
- Gallego-Juárez, J. A., E. Riera, S. De la Fuente Blanco, G. Rodríguez-Corral, V. M. Acosta-Aparicio y A. Blanco. 2007. Application of high-power ultrasound for dehydration of vegetables: processes and devices. *Drying Tech.* 25:1983-1901.
- Gambuteanu, C. y P. Alexe. 2013. Effects of ultrasound assisted thawing on microbiological, chemical and technological properties of unpackaged pork *Longissimus dorsi*. *Food Tech.* 37:98-107.
- Gambuteanu, C., V. Filimon y P. Alexe. 2013. Effects of ultrasound on technological properties of meat: A review. *Annals. Food Sci. Tech.* 14:176-182.
- Gao, S., G. D. Lewis, M. Ashokkumar y Y. Hemar. 2014. Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 1. Effect of growth phase and capsule properties of the bacteria. *Ultrason. Sonochem.* 21(1):446–453.
- Garrido, M. D., S. Bañon, J. Peduyé y J. Lauenciana. 1994. Objective meat quality measurements of ham: a practical classification method of the slaughterline. *Meat Sci.* 37:421.
- Gómez-Díaz, J. y A. López-Malo. 2009. Aplicaciones del ultrasonido en el tratamiento de alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos.* 3:59-73.

- Got, J. Culioli, P. Berge, X. Vignon, T. Astruc, J. M. Quideau y M. Lethiecq, 1999. Effects of high-intensity high-frequency ultrasound on ageing rate, ultrastructure and some physicochemical properties of beef. *Meat Sci.* 51:35-42.
- Grau, R. y R. Hamm. 1953. A simple method for the determination of water binding in muscles. *Naturwiss.* 40(1):29-30.
- Guerrero, L. I. Ponce, A. E. y Pérez, M. L. 2002. Curso práctico de tecnología de carnes y pescado. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. D. F. México.
- Hanieh, S., H. Niels, K. U. Nonboe, J. E. L. Corry y G. Purnell. 2014. Combined steam and ultrasound treatment of broilers at slaughter: A promising intervention to significantly reduce numbers of naturally occurring campylobacters on carcasses. *Int. J. Food Microbiol.* 176:23-28.
- Haughton, P., J. Lyng, D. Morgan, D. Cronin, F. Noci, S. Fanning y P. Whyte. 2012. An evaluation of the potential of high-intensity ultrasound for improving the microbial safety of poultry. *Food Biopro. Technol.* 5(3):992-998.
- Hennekinne, A., M. L. De Buyser y S. Dragacci. 2012. *Stafilococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol. Rev.* 36:815–836.
- Herceg, Z., K. Markov, B. S. Šalamon, A. R. Jambrak, T. Vukušić, y J. Kaliterna. 2013. Effect of high intensity ultrasound treatment on the growth of food spoilage bacteria. *Food Technol. Biotechnol.* 51:352-359.
- Honikel, K. O. y R. Hamm. 1994. Measurement of water-holding capacity and juiciness. In A.M. Pearson and T.R. Dutson (Eds.), *Advances in meat research* (Vol. 9, pp. 125-161). Glasgow: Blackie Academic and Professional.
- Huff-Lonergan, E. y S. M. Lonergan. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of post mortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.* 71:194-204.
- International Commission on Microbiological Specifications of Foods (ICMSF). *Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities (Microorganisms in Foods)*. New York, NY: Springer, 2005.
- Janz, J. A. M., P. C. H. Morel, B. H. P. Wilkinson y R. W. Purchas. 2007. Preliminary investigation of the effects of low-level dietary inclusion of fragrant essential oils and oleoresins on pig performance and pork quality. *Meat. Sci.* 75:350-355.

- Jayasooriya, S. D., B. R. Bhandari, P. Torley y B. R. D'Arcy. 2004. Effect of high power ultrasound waves on properties of meat: A review. *Int. J. Food Prop.* 7(2):301-319.
- Jayasooriya, S. D., P. J. Torley, B. R. D'Arcy y B. R. Bhandari. 2007. Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine semitendinosus and longissimus muscles. *Meat Sci.* 75:628–639.
- Jørgensen, A. S., M. Christensen y P. Ertbjerg. 2008. Marination with kiwifruit powder followed by power ultrasound tenderizes porcine M. biceps femoris. In *International Conference of Meat Science and Technology 2008. International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST)*.
- Joyce, E., A. Al-Hashimi y T. J. Mason. 2011. Assessing the effect of different ultrasonic frequencies on bacterial viability using flow cytometry. *J. App. Microb.* 110(4):862–870.
- Judge, M. D., E.D. Aberle, J. C. Forrest, H. B. Hedrick y R. A. Merkel. 1989. *Principles of Meat Science*. Kendall Hunt Publishing Company. United States of America.
- Kalantar, E., A. Maleki, M. Khosravi y S. Mahmodi. 2010. Evaluation of ultrasound waves effect on antibiotic resistance *seudomonas aeruginosa* and *Stafilococcus aureus* isolated fro hospital and their comparison with standard species. *Iranian J. Health Environ.* 3(3):319-326.
- Koohmaraie, M., S. C. Seidemann, J. E. Schollmeyer, T. R. Dutson y J. D. Crouse. 1987. Effect of post-mortem storage on Ca (++)-dependent proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. *Meat Sci.* 19(3):187–96.
- Kordowska-Wiater, M. y D. M. Stasiak. 2011. Effect of ultrasound on survival of gram-negative bacteria on chicken skin surface. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 55: 207-210.
- Kuijpers, M. W., M. F. Kemmere y J. T. Keurentjes. 2002. Calorimetric study of the energy efficiency for ultrasound-induced radical formation. *Ultrasonics.* 40:675-678.
- Kuldiloke, J. 2002. Effect of ultrasound, temperature and pressure treatments on enzyme activity and quality indicators of fruit and vegetable juices [en línea]. *Tag der wissenschaftliche Aussprache. (Berlin 2002)*. Disponible en: http://edocs.tu-berlin.de/diss/2002/kuldiloke_jarupan.pdf.
- Lawrie, R. A. y D. A. Ledward. 2006. *Lawrie's meat science*. Seventh ed. CRC Woodhead Publishing Limited. United States of America. pp 75-155.

- López-Malo, A., E. Palou, M. Jiménez-Fernández, S. Maris-Alzamora y S. Guerrero. 2005. Multifactorial fungal inactivation combining thermosonication and antimicrobials. *J. Food Eng.* 67:87-93.
- Luo, H., F. Schmid., P. R. Grbin y V. Jiraneck. 2012. Viability of common wine spoilage organisms after exposure to high power ultrasonics. *Ultras. Sonochem.* 19:415-420.
- Lyng, J. G., P. Allen y B. M. McKenna. 1997. The influence of High intensity ultrasonics baths on aspects of beef tenderness. *J. Muscle Foods.* 8:237-249.
- Lyng, J. G., P. Allen y B. M. McKenna. 1998a. The effect on aspects of beef tenderness of pre- and post-rigor exposure to a high intensity ultrasound probe. *J. Sci. Food Agric.* 78:308-314.
- Lyng, J. G., P. Allen y B. M. McKenna. 1998b. The effects of pre- and post-rigor high-intensity ultrasound treatment on aspects of lamb tenderness. *Lebensmittel-Wiss. Technol.* 31:334-338.
- Manas, P. y R. Pagán. 2005. Microbial inactivation by new technologies of food preservation. *J. Appl. Microbiol.* 98: 1387-1399.
- Mason, T. J. 1998. Power ultrasound in food processing – the way forward. In: *Ultrasound in Food Processing*. Povey M. J. W. and Mason T. J. (eds.) Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, pp 104-124.
- Mason, T.J., E. Riera, A. Vercet y P. Lopez-Buesa. 2005. Chapter 13 “Applications of Ultrasound”. In *Emerging Technologies for Food Processing*, ed (Da-Wen Sun ed.): Amsterdam, pp. 323-352.
- McDonnell, C. K., J. G. Lyng, J. M. Arimi y P. Allen. 2014. The acceleration of pork curing by power ultrasound: A pilot-scale production. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 26:191-198.
- Melody, J. L., S. M. Lonergan, L. J. Rowe, T. W. Huiatt, M. S. Mayes y E. Huff-Lonergan. 2004. Early post mortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *J. Anim. Sci.* 82:1195-1205.
- Morón-Fuenmayor, O. E. y L. Zamorano García. 2004. Pérdida por goteo en carne cruda de diferentes tipos de animales. *Revista Científica, FCV-LUZ* 14(1):36-39.
- Mukhopadhyay, S. y R. Ramaswamy. 2011. Applications of emerging technologies to control Salmonella in foods: A review. *Food Res. Int.* 45:666-677.

- Nazari, S. M. y W. Jochen. 2010. Evidence of antimicrobial activity of date fruits in combination with high intensity ultrasound. *African J. Micr. Res.* 4:561-567.
- NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. *Diario Oficial de la Federación.* México
- NOM-115-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos. *Diario oficial de la Federación.* México.
- O'Sullivan, M. G., D. V. Byrne, H. Martens, L. H. Gidskehaug, H. J. Andersen y M. Martens. 2003. Evaluation of pork color: Prediction of visual sensory quality of meat from instrumental and computer vision methods of colour analysis. *Meat Sci.* 65:909-918.
- Ocampo, I. D., F. Bermúdez M. y H. Díaz. 2009. Efecto del tiempo de almacenamiento, el tipo de músculo y el genotipo del animal sobre las pérdidas por goteo en carne curada de cerdo. *Acta Agronómica, Univ. Nal. Colombia.* 58(3):180-188.
- Ohlsson, T. y N. Bengtsson. 2002. Introduction In: *Minimal Processing Technologies in the Food Industry.* T. Ohlsson and N. Bengtsson (eds.) CRC Press and Woodhead Publishing Limited Boca Raton FL USA.
- Pagan, R., P. Manas, I. Alvarez y S. Condon. 1999. Resistance of *Listeria monocytogenes* to ultrasonic waves under pressure at sublethal (manosonication) and lethal (manothermosonication) temperatures. *Food Microbiol.* 16:139-148.
- Pardo, J. E., L. Tarjuelo, B. Mateos, J. Hurtado, y A. Alvariuz. 2006. Parámetros a evaluar en el control de la calidad de las carnes. *Eurocarne.* 152:19-34.
- Pérez, A. A. J. 2006. Color. *Ciencia y Tecnología de Carnes.* Ed. Trillas. México. D.F. pp 161-197.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A.-S. y Chemat, F. 2013. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control.* 31(2): 593-606.
- Piñon M.I., Alarcon-Rojo A.D., Renteria A.L., Mendez G., Janacua-Vidales H. 2015. Reduction of microorganisms in marinated poultry breast using oregano essential oil and power ultrasound. *Acta Alimentaria.* 44(4): 527-533.
- Piyasena, P., E. Mohareb y R. C. McKellar. 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *Int. J. Food Micr.* 87: 207-216.

- Pohlman, F. W., M. E. Dikeman y D. H. Kropf. 1997. Effects of High Intensity Ultrasound Treatment, Storage Time and Cooking Method on Shear, Sensory, Instrumental Color and Cooking Properties of Packaged and Unpackaged Beef pectoralis Muscle. *Meat Sci.* 46: 89-100.
- Porras, R. Y. M., O. A. Pedraza Díaz, F. H. Fernández Morales y J. E. Duarte. 2004. Manipulación de protozoos por ultrasonido. *Revista colombiana de biotecnología*, vol. VI N° 001 pg 79-84.
- Rodríguez-Calleja, J., M. Cebrián, S. Condón y P. Mañas. 2006. Variation in resistance of natural isolates of *Stafilococcus aureus* to heat, pulsed electric field and ultrasound under pressure. *Journal of Applied Microbiology* 100(5)1054–1062.
- Sams, A. y R. Fera. 1991. Microbial effects of ultrasonication of broiler drumstick skin. *J. Food Sci.* 56:247-248.
- SAS, 2003. User's guide statistics. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Sheridan, J. J. 1996. The effect of freezing on the survival of pathogens in different meat types and the effect of varying lean fat rations. M.H. Hinton, C. Rowlings (Eds.), *Factors Affecting the Microbial Quality of Meat: 3. Cutting and Further Processing*, University of Bristol Press, Bristol (1996), pp. 97–107.
- Sikes, A.L., R. Mawson, J. Stark y R. Warner. 2014. Quality properties of pre- and post-rigor beef muscle after interventions with high frequency ultrasound. *Ultrason. Sonochem.* 21:2138-2143.
- Siró, I., C. Vén, C. Balla, G. Jónás, I. Zeke y L. Friedrich. 2009. Application of an ultrasonic assisted curing technique for improving the diffusion of sodium chloride in porcine meat. *J. Food Eng.* 91:353–362.
- Smith, D. P. 2011. Effect of ultrasonic marination on broiler breast meat quality and *Salmonella* contamination. *Int. J. Poult. Sci.* 10:757-759.
- Smith, N. B., J. E. Cannon, J. E. Novakofski, F. K. Mckeith y W. D. O'Brien. 1991. Tenderization Of Semitendinosus Muscle Using High Intensity Ultrasound. *Ultrasonics Symposium*. pp. 1371-1374.
- Speck, M. L. y B. Ray. 1997. Effect of freezing and storage on microorganisms in frozen foods: A review. *J. Food Prot.* 40:333-336.
- Stadnik, J. 2009. Influence of sonication on the oxidative stability of beef. *Roczniki Instytutu Przemysłu Miesnego i Tłuszczowego* 47:63–68.
- Stadnik, J. y Z. J. Dolatowski. 2008. Influence of sonication on the oxidative stability of beef. In *International Conference of Meat Science and*

- Technology 2008. International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST). 1-3.
- Stadnik, J. y Z. J. Dolatowski. 2011. Influence of sonication on Warner–Bratzler shear force, color and myoglobin of beef (m. semimembranosus). *Eur. Food Res. Tech.* 233:553–559.
- Stadnik, J., Z. J. Dolatowski y H. M. Baranowska. 2008. Effect of ultrasound treatment on water properties and microstructure of beef (M. semimembranosus) during ageing. *Food Sci.Tech.* 41:2151–2158.
- Suárez, H., A. D. Francisco y L. Beirao. 2008. Influence of bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* lpbm10 on shelf life of cachama hybrid fillets *Piaractus rachypomus* x *Colossoma macropomum* vacuum packaged. *Vitae.* 15:32-40.
- Tang, J., C. Faustman, R. Mancini, M. Seyfert y M. Hunt. 2006. The effects of freeze-thaw and sonication on mitochondrial oxygen consumption, electron transport chain-linked metmyoglobin reduction, lipid oxidation, and oxymyoglobin oxidation. *Meat Sci.* 74:510-151.
- Tarladgis, B. G., B. M. Watts y M. T. Younathan. 1960. A Distillation Method for the Quantitative Determination of Malonaldehyde in Rancid Foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 37:44-48.
- Terán-Acuña, N., A. David-Castro y O. Orlando-Porras. 2015. Efecto de la aplicación de ondas ultrasonido de alta potencia (25kHz) sobre las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas del músculo semitendinosus *Longissimus* de la especie bovina. *Rev. Invest. Univ. Quindío.* 27:120-126.
- Torley, P. J. y B. R. Bhandari. 2007. Handbook and food preservation. *Ultrasounds in Food Processing and Preservation.* Cap. 29. Second Edition. CRC Press. Estados Unidos de América.
- Tortorello, M. L. 2014. *Encyclopedia of Food Microbiology.* Academic Press.
- Turantas, F., G. B. Kilic y B. Kilic. 2015. Ultrasound in the meat industry: General applications and decontamination efficiency. *International J. of Food Micr.* 198: 59-69.
- Valverde, M. E. F. 2003. Manual para el laboratorio de microbiología de alimentos. Universidad Autónoma de Chihuahua. México.
- Vilkhu, K., R. Mawson, L. Simons y D. Bates. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry. A review. *Innov. Food Sci. Emer. Tech.* 9:161-169.

Wheeler, T.L., S.D. Shackelford y M. Koohmaraie. 1996. Sampling, cooking, and coring effects on Warner-Bratzler shear force values in beef. *J. Anim. Sci.* 74:1553-1562.