

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**APLICACIÓN DE ULTRASONIDO DE ALTA Y BAJA INTENSIDAD EN LA
CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES ACÚSTICAS Y TEXTURALES DE LA CARNE DE
BOVINO Y EL EFECTO SOBRE CALIDAD DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS**

POR:

M.C. SERGIO DÍAZ ALMANZA

DISERTACIÓN PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR IN PHILOSOPHIA

ÁREA MAYOR: TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

SEPTIEMBRE 2020



Aplicación de ultrasonido de alta y baja intensidad en la caracterización de las propiedades acústicas y texturales de la carne de bovino y el efecto sobre la calidad de los productores cárnicos. Disertación presentada por Sergio Díaz Almanza como requisito parcial para obtener el grado de Doctor in Philosophia, ha sido aprobado y aceptada por:

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

D.Ph. Agustín Corral Luna
Secretario de Investigación y Posgrado

Ph.D. Iván Adrián García Galicia
Coordinador Académico

Ph.D. Iván Adrián García Galicia
Presidente

07 SEPTIEMBRE 2020

Fecha

Comité:

Ph.D. Alma Delia Alarcón Rojo
Dr. Raúl Reyes Villagrana
Dr. Guadalupe Nelson Aguilar
Palma
Ph.D. Ana Luisa Rentería
Villalobos

© Derechos Reservados
AUTOR. SERGIO DÍAZ
ALMANZA
DIRECCIÓN: PERIFÉRICO
FRANCISCO R. ALMADA KM. 1,
CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO
C.P. 31453

SEPTIEMBRE 2020

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida y permitirme realizar los estudios de doctorado con salud y alcanzar este logro.

A mis padres Gelo y Sergio por su apoyo incondicional y su amor durante toda mi vida.

A mi esposa Mónica por su paciencia, compromiso, dedicación y compañía incluso en la estancia de investigación, dejando su trabajo para continuar con mis estudios.

A mi hijo Leonardo, por darme alegría, la fortaleza y el ánimo de continuar preparándome.

A mis abuelos, a mis tíos, primos, a mis suegros y mis compadres por apoyarme e impulsarme a seguir mis objetivos e ilusiones profesionales.

A todos mis amigos, en especial a Mario, Héctor y Miguel, a mis compañeros de doctorado y estancias de investigación, por su compañía y brindarme apoyo cuando fue necesario.

A mis asesores por sus sabios consejos que me ayudaron a mejorar y contribuyeron en mi formación. Por su trato respetuoso y amable y por hacerme sentir como un compañero más que como doctorante.

Al doctor Agustín por brindarme todo el apoyo y por todas las facilidades otorgadas para realizar la estancia de investigación en España.

A los profesores, compañeros y amigos de Valencia España, por compartir su conocimiento en especial a Jose Benedito, José García y Lola. A mis queridos amigos Ever y Cynthia por brindarnos su hospitalidad y amistad. A mis amigos Nelson, Ronaldinho, Vinicius, Alessia, Ebru que se convirtieron en una segunda familia.

A los doctores del proyecto de cátedras, en especial a Raúl y Mariana, compañeros de laboratorio y convivencia diaria, por sus enseñanzas, aportaciones, cariño y apoyo en las largas jornadas de laboratorio.

Al Dr. Carlos Morales por su apoyo y confianza, siendo una persona de suma importancia para el desarrollo de mi programa doctoral.

A mi director de disertación Iván por su paciencia, dedicación, experiencia y enseñanzas transmitidas durante la realización de esta disertación doctoral.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, a mis padres Gelo y Sergio, a mi esposa Mónica, a mi hijo Leo, a mis familiares y amigos en especial a Mario, Héctor y Miguel y a todas las personas que me apoyaron para para la realización de este trabajo y que son parte fundamental de este logro.

RESUMEN GENERAL

**APLICACIÓN DEL ULTRASONIDO DE ALTA Y BAJA INTENSIDAD EN LA
CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES ACÚSTICAS Y TEXTURALES
DE LA CARNE DE BOVINO Y EL EFECTO SOBRE CALIDAD DE LOS
PRODUCTOS CÁRNICOS**

POR:

M.C. SERGIO DÍAZ ALMANZA

Doctorado in Philosophia en Producción Animal

Universidad Autónoma de Chihuahua

Facultad de Zootecnia y Ecología

Secretaría de Investigación y Posgrado

Presidente: Iván Adrián García Galicia

El ultrasonido es una herramienta alternativa muy prometedora que puede ser utilizada en la industria de la carne con varios objetivos, desde caracterización por ultrasonido de baja intensidad (UBI), hasta procesamiento por ultrasonido de alta intensidad (UAI). La presente disertación tuvo como objetivo evaluar el uso de UAI y UBI en carne de bovino, determinar el efecto que las condiciones del UAI tienen sobre las características de calidad, evaluar el efecto de las condiciones de medición del UBI sobre los valores de propiedades acústicas, y la relación de las propiedades acústicas con la ternura de la carne. El UAI utilizado con empaque al vacío inhibe el daño por cavitación en láminas de aluminio, sin embargo, presentan daño al ser empacadas con agua en el interior

de la bolsa. El efecto mecánico de la cavitación es más evidente a distancias menores del emisor (3 cm) y a mayores intensidades de ultrasonido (90 W/cm^2). Al exponer *Longissimus dorsi* de bovino a 10, 20 y 40 min de UAI, se encontró la mayor reducción de dureza (20.7%) al mayor tiempo evaluado. Además, se observó un incremento de pH de 5.46 a 5.6, y un aumento en la coordenada hue de 0.62 a 0.76 provocando cambio de tonalidad de rojo hacia naranja. También, se redujeron significativamente los mesófilos, psicrófilos y coliformes al ultrasonicar (UAI) presentando los valores más bajos a los 10 min de procesamiento. Los resultados del UBI muestran un coeficiente de correlación elevado (0.95) entre la frecuencia de resonancia y la firmeza de carne para hamburguesa a base de cerdo. Por último, la velocidad de fase acústica (VFA) está directamente relacionada con la textura de la carne, presentando valores menores en músculos más blandos. Se redujo la VFA en $\cong 41.6 \text{ m/s}$ al aplicar UAI, mientras que la deformación de la muestra afectó inversamente en las mediciones de UBI, presentando los valores más bajos a la mayor deformación evaluada (40%), con una disminución de $\cong 149 \text{ m/s}$.

GENERAL ABSTRACT

APPLICATION OF HIGH AND LOW INTENSITY ULTRASOUND IN CHARACTERIZATION OF THE ACOUSTIC AND TEXTURE MEAT PROPERTIES AND THE EFFECT ON MEAT PRODUCTS QUALITY

BY:

SERGIO DÍAZ ALMANZA

Ultrasound is a promising alternative tool that can be used for several purposes. The aim of this dissertation was to evaluate the use of high intensity ultrasound (HIU) and low intensity ultrasound (LIU) in beef, to determine the effect of HIU measurement on the values of acoustic properties and the relation of the acoustic properties and meat tenderness. The results of the dissertation for UAI showed that vacuum packaging aluminum foils in plastic bags inhibited the damage due to cavitation, but when water was added in the bags the foils presented damage. The mechanical effect of cavitation is more evident at smaller distances from the emitter (3 cm) and at higher ultrasound intensities (90 W/cm²). When exposing beef (*Longissimus dorsi*) at different UAI times, the greatest hardness reduction (20.7%) at the longest time evaluated (40 min), a pH increment from 5.46 to 5.6 and an increase of hue coordinate from 0.62 to 0.76 was found. Mesophiles, psicrophiles and coliforms were significantly reduced by UAI presenting the lowest values at 10 minutes of processing. The results of the dissertation for UBI show high correlation coefficient (0.95) between the resonant frequency and the firmness of pork meat for hamburgers. Finally, the acoustic phase velocity (VFA) is directly related to meat texture, presenting lower VFA

values in softer muscles, the VFA was reduced $\cong 41.6\text{m/s}$ when applying UAI, while the deformation of the sample inversely affected the UBI measurements, presenting the lowest values at the highest evaluated strain (40%), with a decrease of $\cong 149\text{m/s}$.

CONTENIDO

RESUMEN GENERAL	vi
GENERAL ABSTRACT	viii
LISTA DE CUADROS	xv
LISTA DE GRÁFICAS.....	xvi
LISTA DE FIGURAS	xix
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Historia del Ultrasonido.....	4
Movimiento Armónico Simple	4
Ondas Acústicas	5
Velocidad de Fase Acústica.....	12
Coeficiente de Atenuación	14
Impedancia Acústica (Z)	14
Ultrasonido de Alta Intensidad	16
Usos de Ultrasonido de Alta Intensidad	16
Transferencia de Masa	19
UAI en la Industria de la Carne.....	23
Modificación de Textura por UAI.....	24
Descontaminación por UAI	31
Ultrasonido de Baja Intensidad	34
Usos de Ultrasonido de Baja Intensidad	35
Modos de Ultrasonido de Baja Intensidad	39
Aspectos a Considerar Durante las Mediciones	39
LITERATURA CITADA	41
CAPÍTULO I. ESTUDIOS EXPLORATORIOS	53

RESUMEN	54
ABSTRACT	56
INTRODUCCIÓN	57
MATERIALES Y MÉTODOS	60
Experimento I. Intensidades de Ultrasonido en Carne de Bovino.....	60
Experimento II. Empaque de Polimeros Como Protección a la Cavitación Acústica	62
Experimento III. Daño de Cavitación Acústica a Distintas Distnacias Dentro de Carne de Bovino	60
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	65
Experimento I.....	69
Experimento II.....	69
Experimento III.....	71
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	78
LITERATURA CITADA.....	79
 CAPÍTULO II.- TIME MATTERS WHEN ULTRASONICATING BEEF: THE BEST TIME FOR TENDERNESS IS NOT THE BEST FOR REDUCING MICROBIAL COUNTS.....	82
RESUMEN	83
ABSTRACT	85
INTRODUCTION.....	86
MATERIALS AND METHODS.....	89
Raw Materials and Sample Preparation	89
Ultrasound Treatments	89
Color Analysis.....	90
pH	90
Shear Force Analysis.....	91
Microbial Activity	91

Statistical Analysis	92
RESULTS AND DISCUSSION	93
Color	93
pH	97
Shear Force	99
Microbial Activity	102
CONCLUSIONS	118
ACKNOWLEDGMENT	118
REFERENCES.....	119
CAPÍTULO III.- AIRBORNE ULTRASONIC TESTING OF PORK BURGER	
PATTIES.....	126
RESUMEN	127
ABSTRACT	128
INTRODUCTION.....	129
METHODOLOGY	129
Sample Preparation	129
Proximate Analysis	130
Non-contact Ultrasonic Method.....	130
Textural Analysis	132
RESULTS AND DISCUSSION	135
CONCLUSION	140
REFERENCES.....	141
CAPÍTULO IV.- ANÁLISIS DE LA MEDICIÓN SIMULTÁNEA DE LA	
VELOCIDAD DE FASE ACÚSTICA Y LA RELACIÓN ESFUERZO-	
DEFORMACIÓN EN CARNE DE BOVINO: UNA APROXIMACIÓN AL	
MÓDULO DE YOUNG	142
RESUMEN.....	143

ABSTRACT.....	145
INTRODUCTION.....	146
ANTECEDENTES	149
MATERIALES Y MÉTODOS	152
Materia Prima y Preparación de la Muestra.....	152
Arreglo Experimental	154
Análisis de Esfuerzo	154
Velocidad de Fase Acústica.....	154
Análisis Estadístico	157
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	159
Esfuerzo de la Muestra.....	159
Velocidad de Fase Acústica.....	161
CONCLUSIÓN	168
LITERATURA CITADA.....	169

CURRICULUM VITAE

El autor nació el 06 de Enero de 1989 en la ciudad de Chihuahua, Chihuahua, México.

2007-2012	Estudió Ingeniería Química en la Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Químicas.
2013-2015	Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua.
2016-a la fecha	Estudia el Doctorado en Philosophia en el área de Tecnología de Productos de Origen Animal en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Efecto de ultrasonido de alta intensidad sobre la textura de carne.....	28
2	Propiedades ultrasónicas de algunos alimentos (McClements y Sundaram, 1997).....	37
3	Predicción de textura en productos cárnicos.....	38
4	Propiedades de color de muestras cárnicas de bovino (<i>Longissimus dorsi</i>) sometido a distintas intensidades de ultrasonido.....	68
5	Propiedades acústicas de las muestras de carne de bovino utilizadas para la evaluación de distancias de 3, 6, 9 y 12 mm...	72
6	Área de daño de cavitación acústica en láminas de aluminio a profundidades de 3, 6, 9 y 12 mm dentro de carne de bovino (<i>Longissimus dorsi</i>).....	73
7	Efecto del tiempo de ultrasoniación ($F = 37\text{kHz}$, $I = 90\text{W/cm}^2$) sobre parámetros de color (L^* , a^* , b^* , $^\circ\text{Hue}$ and Chroma . mean $\pm$ S.E.) en bovino <i>Longissimus lumborum</i> . (Effect of ultrasonication ($F = 37\text{kHz}$, $I = 90\text{W/cm}^2$) time on color parameters (L^* , a^* , b^* , $^\circ\text{Hue}$ and Chroma . mean $\pm$ S.E.) in bovine <i>Longissimus lumborum</i>).....	94
8	Resultados del análisis proximal (Results of proximal analysis).....	131
9	Ultrasonido de baja intensidad en investigaciones de muestras cárnicas, usando velocidad de fase ultrasónica (c), coeficiente de atenuación (α), impedancia acústica característica (Z) o análisis de imagen (AI).....	150

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Página
1	Efecto de la intensidad ultrasónica sobre la dureza de la carne de bovino (<i>Longissimus dorsi</i>).....	66
2	Efecto de la intensidad de ultrasonificación sobre el pH de la carne de bovino (<i>Longissimus dorsi</i>).....	67
3	pH (promedio $\pm$ S.E.) en carne <i>Longissimus lumborum</i> a distintos tiempos de ultrasonificación (F = 37kHz, I = 90W/cm ²). Letras distintas indican diferencias significativas entre tiempos de ultrasonificación. (. pH (mean $\pm$ S.E.) in beef <i>Longissimus lumborum</i> at different ultrasonication times (F = 37kHz, I = 90W/cm ²). ^{a, b} Different superscripts mean significant differences among ultrasonication times).....	98
4	Efecto del tiempo total de ultrasonificación (mitad por lado) en textura de carne <i>Longissimus lumborum</i> (A Warner-Bratzler fuerza máxima y B área positiva). (Effect of total sonication time (half per side) on beef <i>Longissimus lumborum</i> texture (A Warner-Bratzler peak force and B Positive area))	100
5	Efecto de (a) parte del músculo y (b) tiempo de ultrasonificación a 4°C sobre mesófilos, psicrófilos, <i>Escherichia coli</i> y coliformes obtenidos de <i>Longissimus lumborum</i> . Letras distintas indican diferencias significativas para el mismo microorganismo (P < .05). (Effect of (a) muscle part and (b) ultrasonication time at 4°C on mesophiles, psychrophiles, <i>Escherichia coli</i> , and coliforms obtained from <i>Longissimus lumborum</i> . Different letters indicate significant differences for the same microorganism (p < .05)).....	103
6	Magnitud del coeficiente de transmisión de 5 distintos agregados de tejido graso: azul 0%, Amarillo 20%, verde 40%, rojo 60%, morado 80%. (Magnitude of the transmission coefficient of 5 different added fatty tissue: blue, 0%; yellow, 20%; green, 40%; red, 60%; purple, 80%).....	133
7	Evolución de los parámetros ultrasónicos con tejido graso y temperatura (azul 5°C, rojo 20°C). Se presenta promedio e intervalo de confianza del 95%, a) velocidad de fase ultrasónica [m/s]; b) magnitud del primer pico de resonancia que aparece en el rango de frecuencia medido. (Evolution of ultrasonic parameters with fatty tissue and temperature (blue, 5 °C; red, 20 °C): Mean and 95% interval confidence were represented, a) ultrasonic velocity (m/s); b) magnitude of the	

	first resonance peak that appears in the frequency range measured).....	136
8	Evolución de los parámetros de textura con tejido graso y temperatura (azul 5°C, rojo 20°C). Se presenta promedio e intervalo de confianza del 95%, a) fuerza máxima de compresión [N]; b) fuerza de relajación a 90 s [N]. (Evolution of textural parameters with fatty tissue and temperature (blue, 5 °C; red, 20 °C): Mean and 95% interval confidence were represented , a) maximum compression force (N); b) relaxation force at 90 s (N)).....	137
9	Correlación entre parámetros ultrasónicos y de textura sobre el porcentaje de tejido graso: cada marcador representa el valor promedio correspondiente a 0%, 20%, 40%, 60% y 80% de tejido graso añadido. Las líneas solidas representan una regresión linear: en azul a 5°C, en rojo a 20°C. a) Velocidad de fase ultrasónica [m/s] contra fuerza máxima de compresión [N]; b) Distancia entre máxima adyacente [kHz] contra fuerza máxima de compresión [N]. (Correlation between ultrasonic and textural parameters over fatty tissue percentage: each marker represents the corresponding mean values at 0%, 20%, 40%, 60% and 80% of added fatty tissue. Solid lines, represent the linear regression: in blue, at 5 °C; in red, at 20 °C. a) Ultrasonic velocity (m/s) versus maximum compression force (N); b) Distance between adjacent maxima (kHz) versus Maximum compression force (N)).....	139
10	Esfuerzo requerido ($\pm$ E.E.) para deformar (en porcentaje) distintos músculos (<i>Longissimus thoracis</i> , LT; <i>Longissimus lumborum</i> , LL; and <i>Psoas major</i> , PM). Distintas letras indican diferencias significativas ($P < 0.05$).....	160
11	Efecto de la deformación sobre la velocidad de fase acústica de muestras de carne ($\pm$ E.E.). Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).....	162
12	La velocidad de fase acústica ($\pm$ E.E.) es afectada por distintos músculos (<i>Longissimus thoracis</i> (LT), <i>Longissimus lumborum</i> (LL) y <i>Psoas major</i> (PM)). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).....	164
13	La impedancia acústica característica ($\pm$ E.E.) es afectada por distintos músculos (<i>Longissimus thoracis</i> (LT), <i>Longissimus lumborum</i> (LL) y <i>Psoas major</i> (PM)) y se	

	correlaciona con el esfuerzo. Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).....	165
14	Efecto del pretratamiento de ultrasonido de alta intensidad sobre la velocidad de fase acústica ($\pm$ E.E.). Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).....	167

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Representación del movimiento armónico simple mediante un vector rotatorio de radio r y velocidad angular ω que gira en contra de las manecillas del reloj (Seto, 1971).....	6
2	Propagación de una onda ultrasónica: a. -longitudinal, b. -transversal y c. -de Rayleigh, a través de un material. Modificado de Khairi <i>et al.</i> (2015).....	9
3	Representación de una onda ultrasónica con sus características de amplitud (A), longitud de onda (λ) y periodo (T). Modificado de McClements y Sundaram (1997).	11
4	Generación de corrientes de chorro mediante la implosión de burbujas durante la aplicación de ultrasonido en un medio acuoso (Pardo-Rueda, 2012).....	17
5	Distribución de las muestras dentro del baño ultrasónico....	63
6	Efecto de la intensidad sobre láminas de papel aluminio, A) Empaque al vacío, B) Empaque al vacío húmedo (con agua destilada).....	70
7	Daño de las burbujas de cavitación a varias distancias dentro de carne de bovino (3, 6, 9 y 12 mm) y en tres posiciones dentro del baño ultrasónico (90 W/cm ²).....	75
8	Imagen procesada del daño de las burbujas de cavitación (zonas blancas) a varias distancias dentro de carne de bovino (3, 6, 9 y 12 mm) y en tres posiciones dentro del baño ultrasónico (90 W/cm ²).....	76
9	Músculos de bovino (<i>Psoas major</i> , PM; <i>Longissimus lumborum</i> , LL y <i>Longissimus thoracis</i> , LT) usados en esta investigación de los cortes comerciales T-bone y rib eye.....	153
10	Arreglo experimental para la medición de muestras cárnicas.....	155
11	Compresión de la muestra con el sensor ultrasónico acoplado al texturómetro	156

INTRODUCCIÓN

Chihuahua es el noveno productor de ganado bovino en pie y carne en canal a nivel nacional con una producción de 144,873 y 78,237 toneladas por año, respectivamente (SAGARPA, 2017). Sin embargo, gran cantidad de la carne para consumo en Chihuahua es proveniente de ganado lechero o de ganado improductivo (principalmente vacas viejas), lo que resulta en canales de dureza elevada, atribuido a un entrecruzamiento de fibras de colágeno (Lawrie y Ledward, 2006). La textura y el color algunas de las principales características que determina la calidad de la carne y por lo tanto la aceptabilidad por el consumidor en el plato (Jayasooriya *et al.*, 2007; Obuz *et al.*, 2014). Existen varios métodos tradicionales para el ablandamiento de la carne entre los cuales se encuentran procesos mecánicos, enzimáticos y químicos (Jayasooriya *et al.*, 2007). Sin embargo, recientemente hay mayor interés del desarrollo de metodologías alternativas, en donde el UAI ha sido investigado para mejorar las características fisicoquímicas de la carne (Peña-Gonzalez *et al.*, 2019).

El ultrasonido se define como las ondas acústicas con una frecuencia superior al límite de detección humana, correspondiente a frecuencias superiores a 20 kHz (Rossing, 2014). Es una herramienta que ha sido investigada en ciencia de la carne ya sea de forma no destructiva mediante UBI (Benedito *et al.*, 2001; Grill *et al.*, 2015; Nowak *et al.*, 2016; García-Pérez *et al.*, 2017; Lazar *et al.*, 2017) o destructiva mediante UAI, en donde la reducción de dureza es uno de los de los principales objetivos buscados (Chang *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2018; Zou *et al.*, 2018a; Peña-Gonzalez *et al.*, 2019). El UAI puede afectar la textura por medio

de una ruptura de la membrana celular, obteniendo productos de mayor ternieza, además de promover la transferencia de masa (Kang *et al.*, 2016). También puede activar enzimas endógenas que afectan la degradación de proteínas causantes de la dureza (Boistier-Marquis *et al.*, 1999). Sin embargo, otros parámetros que afectan la calidad como color o pH pueden ser modificados por el UAI (Caraveo *et al.*, 2015).

La utilización de UBI es una metodología no destructiva que puede ser utilizada para el análisis y la caracterización de distintos materiales, entre los cuales se encuentran productos cárnicos (Benedito *et al.*, 2001; Llull *et al.*, 2002a; Corona *et al.*, 2013b, 2013a). Esto es muy prometedor ya que los métodos tradicionales de caracterización de textura en productos alimenticios, tales como Warner Bratzler, Punch & Die, 5 Blades y Volodkevich, así como el análisis proximal para la determinación de composición química son metodologías destructivas y demandantes de tiempo. Por lo que el uso de UBI aporta información sin causar un daño en el alimento, reduciendo su desperdicio y podría tener varias aplicaciones, como ser utilizado como medida de control de calidad en una línea de producción automatizada (Llull *et al.*, 2002a). Otros métodos como el infrarrojo se han utilizado como predictor de ternieza sin embargo el precio es elevado (Kamruzzaman *et al.*, 2012). Algunas investigaciones se han realizado para la predicción de textura en productos cárnicos mediante la utilización de UBI (Llull *et al.*, 2002a, 2002b; Corona *et al.*, 2013b) y para predicción de composición (Benedito *et al.*, 2001). Sin embargo,

existe falta de información en parámetros ultrasónicos de carne de bovino (*Longissimus dorsi*) y en modelos predictivos de su textura.

El objetivo de la presente investigación es evaluar el uso de ultrasonido de alta y baja intensidad en carne, determinar el efecto de las condiciones de tratamiento de UAI sobre terneza y otras características de calidad, además de evaluar el efecto de las condiciones de medición de ultrasonido de baja intensidad sobre los valores de propiedades acústicas, así como la relación de las propiedades acústicas con la terneza de la carne de bovino.

REVISIÓN DE LITERATURA

Historia del Ultrasonido

El ultrasonido no es un invento humano, sino un descubrimiento, ya que se encuentra presente en la naturaleza y hace más de 200 años ya había indicios de su existencia. El filósofo de la naturaleza italiano Lazzaro Spallanzani en 1794 realizó un experimento con murciélagos en donde observaba que esquivaban obstáculos en la oscuridad atribuyéndolo a un sexto sentido (Spallanzani, 1794), modificando su explicación en un trabajo posterior en donde lo atribuía a su oído, su trabajo fue rechazado y no fue retomado hasta mediados del siglo XX (Graff, 1981). Posteriormente en 1830 se desarrolló lo que podría ser el primer generador ultrasónico, la rueda de Savart (Graff, 1981). La piezoelectricidad consiste en la conversión de una señal eléctrica en una mecánica y viceversa, y fue su descubrimiento por los hermanos Curie en 1880, la pieza clave para el desarrollo del ultrasonido como lo conocemos actualmente. (Cheeke, 2012).

Movimiento Armónico Simple

El movimiento armónico simple consiste en un movimiento periódico de una masa que ha sido perturbada de su posición de equilibrio estable (Kinsler *et al.*, 2000). Una partícula que se encuentra en movimiento rectilíneo con aceleración proporcional a la distancia a un punto fijo (posición de equilibrio) y direccionado al mismo punto fijo se encuentra en movimiento armónico simple y puede ser representado mediante la Ecuación 1 (Seto, 1971).

$$\frac{d^2x}{dt^2} + \omega^2 x = 0, \quad (1)$$

Donde:

ω Es la velocidad angular

t Es el tiempo

La Ecuación 1 es una ecuación diferencial lineal de segundo orden homogénea, su solución es bien conocida y se muestra en la Ecuación 2 (Seto, 1971; Kinsler *et al.*, 2000). Este movimiento es una función seno o coseno del tiempo y puede ser representado mediante un vector rotatorio en contra de las manecillas del reloj, el cual tiene una magnitud y una velocidad angular constante (Seto, 1971). La magnitud del vector rotatorio representa a la amplitud de la onda, su velocidad angular representa a la frecuencia de la onda, mientras que sus proyecciones en el eje de las ordenadas y de las abscisas corresponden a las funciones seno y coseno, respectivamente (Figura 1) (Seto, 1971).

$$x(t) = A * \cos(\omega t + \theta), \quad (2)$$

Donde:

A Es la amplitud

θ Es el ángulo de fase inicial

Ondas Acústicas

El sonido consiste en la propagación de una onda de presión por un medio y al igual que para el espectro electromagnético en donde la luz visible es solo un fragmento del espectro total, la banda de detección humana del sonido es una pequeña parte del espectro total que va desde los 20 Hz hasta los 20 kHz (Cheeke, 2012). Por debajo de los 20 Hz es denominado infrasonido mientras que el ultrasonido es definido como las ondas acústicas con una frecuencia

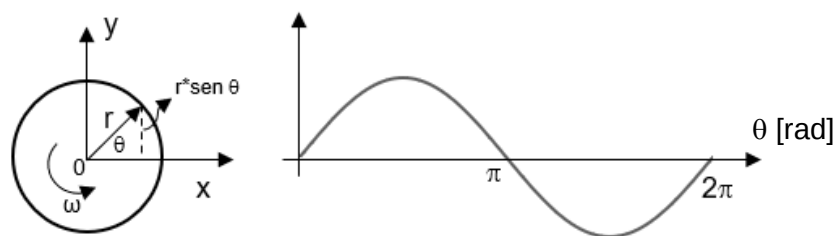


Figura 1. Representación del movimiento armónico simple mediante un vector rotatorio de radio r y velocidad angular ω que gira en contra de las manecillas del reloj (Seto, 1971).

mayor a la que puede ser escuchada por el oído humano, correspondiente a frecuencias mayores a 20 kHz y menores a 1 GHz en el espectro de frecuencia, por arriba de 1 GHz es llamado hipersonido (Cheeke, 2012). Una onda acústica puede ser representada mediante la Ecuación 3 (Cheeke, 2012; Alarcon-Rojó et al., 2019). Mientras que su solución general se muestra en la Ecuación 4 y el perfil de onda en la Ecuación 5 (Seto, 1971; Cheeke, 2012)

$$\nabla^2 P(\vec{r}, t) = \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 P(\vec{r}, t)}{\partial t^2}, \quad (3)$$

Donde:

P Es la presión en función del vector de posición (r) y del tiempo (t)

c Es la velocidad de fase acústica

∇^2 Es el Laplaciano

$$P(\vec{r}, t) = C_1 f_1(x - ct) + C_2 f_2(x + ct), \quad (4)$$

Donde:

C_1 y C_2 Son constantes

f_1 y f_2 Son funciones arbitrarias para una onda que viaja a la derecha y a la izquierda, respectivamente

$$P(\vec{r}, t) = A \text{ Sen } kx, \quad (5)$$

Donde:

A Es la amplitud

K Es el número de onda

A partir de las Ecuaciones 4 y 5 se obtiene la Ecuación 6 que corresponde a una onda que viaja a la derecha en el eje x.

$$P(\vec{r}, t) = A \text{ Sen } k(x - ct + \theta) \quad (6)$$

Las ondas acústicas son generadas a partir de una fuente de excitación, la energía tiene un comportamiento que puede ser predecible dependiendo de las propiedades físicas del medio elástico por el cual se transmite (Seto, 1971). A partir de la vibración de un material, se generan zonas de alta y baja presión en el material por el cual se transmite la onda acústica debido a la compresión y rarefacción de las moléculas del material, transmitiendo energía (Seto, 1971). La energía transmitida es cinética y potencial (Seto, 1971). Durante la vibración de las moléculas la velocidad durante su movimiento corresponde a la energía cinética, mientras que la energía potencial es debido a su desplazamiento elástico (Seto, 1971). La energía potencial de una molécula llega a su máximo valor en el punto más alejado a su punto de equilibrio, en donde su energía cinética es nula (Seto, 1971).

Las ondas acústicas necesitan un medio para propagarse (Seto, 1971). Pueden ser clasificadas en longitudinales, transversales y de Rayleigh (Figura 2) (Khairi *et al.*, 2015). En las ondas transversales las partículas del medio tienen un movimiento armónico simple de forma perpendicular a la dirección de la energía acústica (McClements y Sundaram, 1997). En las ondas longitudinales la dirección de la energía acústica emitida se propaga de forma paralela a la onda acústica, con un movimiento armónico simple de las partículas del medio de forma paralela a la dirección de la energía acústica (McClements y Sundaram, 1997). Al pasar una onda ultrasónica de un medio de baja velocidad de fase acústica a uno de alta velocidad de fase acústica surge como consecuencia una modificación del ángulo de la onda de tal forma que el ángulo de la onda

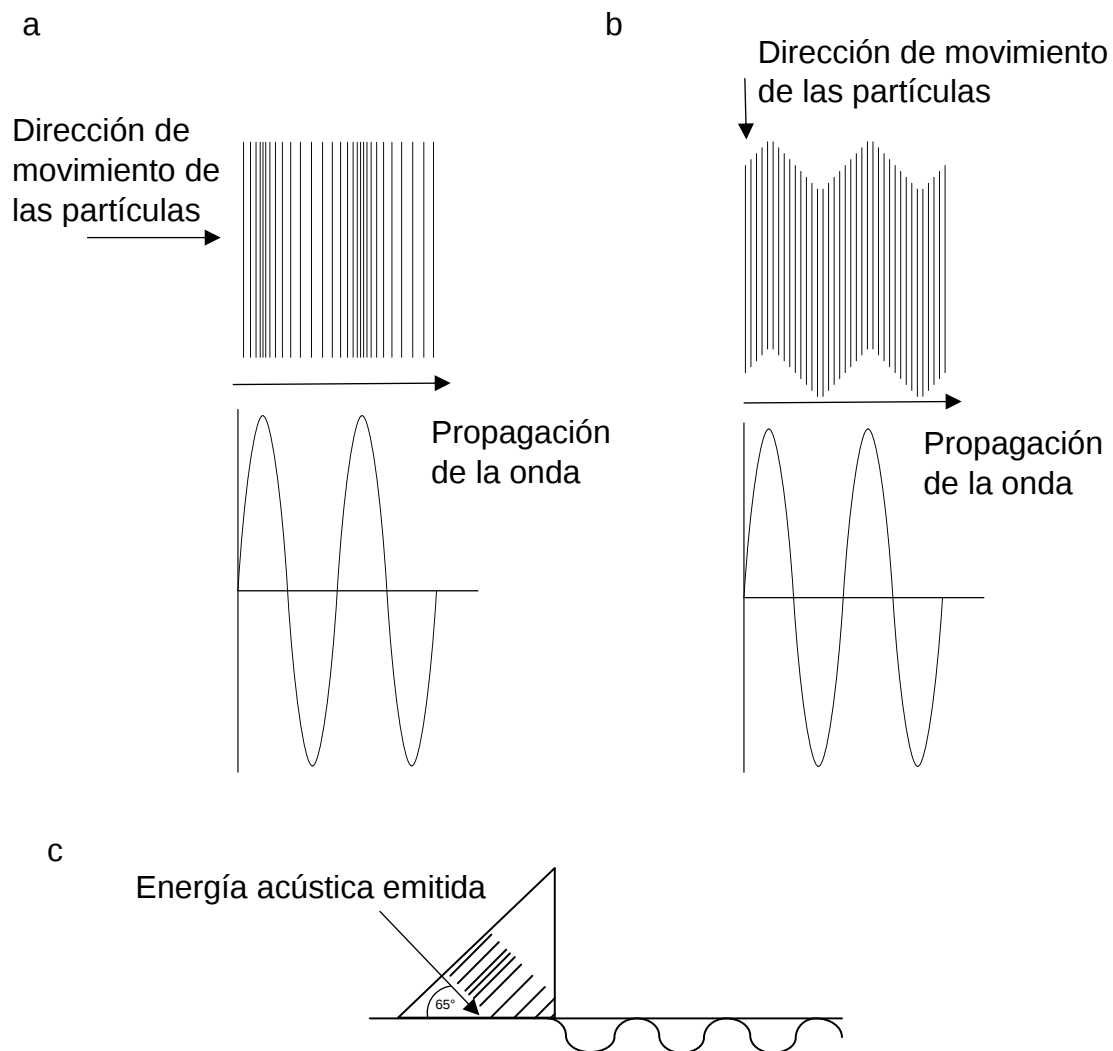


Figura 2. Propagación de una onda ultrasónica: **a.**-longitudinal, **b.**- transversal y **c.**-de Rayleigh, a través de un material. Modificado de Khairi *et al.* (2015).

transmitida es mayor al de la onda incidente (se genera un aumento en el ángulo), causando que la onda refractada se acerque rápidamente al plano de la interfase (Cheeke, 2012).

Se le conoce como ángulo crítico al ángulo de la onda incidente en donde la onda transmitida tiene un ángulo de $\pi/2$ radianes (Cheeke, 2012). Las ondas de Rayleigh, también conocidas como ondas superficiales, se generan cuando una onda longitudinal impacta sobre la superficie de un material con ángulo crítico, en donde la longitud de onda de la proyección de la onda incidente coincide con la longitud de onda de la onda superficial (Rossing, 2014). Posteriormente la onda viaja a través de la superficie del material con una profundidad de hasta una longitud de onda (Khairi *et al.*, 2015).

Una onda ultrasónica tiene amplitud (A) [V], periodo (T) [s], frecuencia (f) [Hz], longitud de onda (λ) [m] y coeficiente de atenuación (α) [dB/m] (Figura 3), siendo λ y α características dependientes de la frecuencia de la onda y propias de cada material (McClements y Sundaram, 1997). El coeficiente de atenuación es la reducción de la energía acústica al pasar a través de cierto material, valores de α elevados representan disminuciones grandes en la energía acústica (Cheeke, 2012). La velocidad de fase acústica es el resultado de la multiplicación de la longitud de onda y la frecuencia ($c = \lambda f$), puede ser determinada de dos maneras: midiendo la longitud de onda a una frecuencia conocida o midiendo el tiempo que le toma en recorrer una distancia conocida (McClements y Sundaram, 1997). La velocidad de fase acústica depende de las propiedades acústicas del

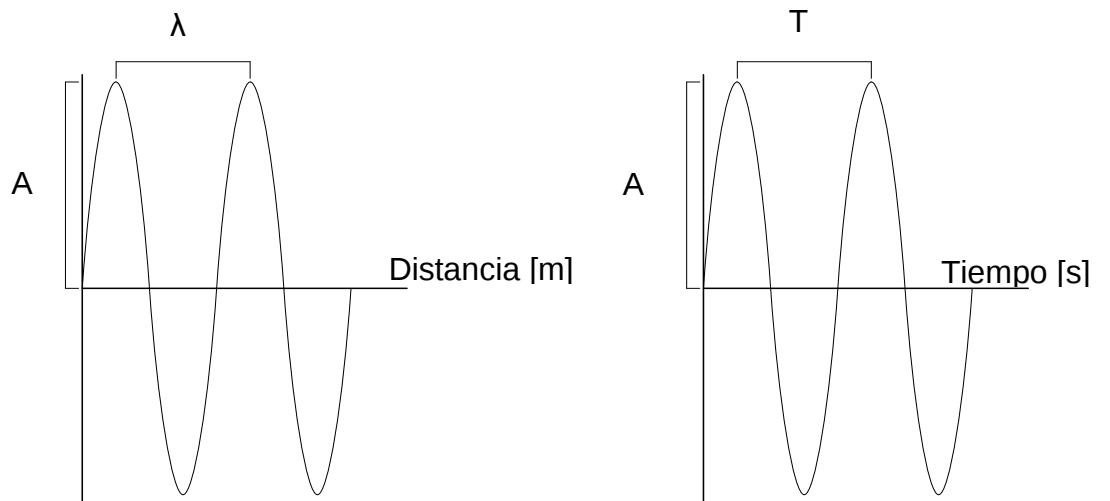


Figura 3. Representación de una onda ultrasónica con sus características de amplitud (A), longitud de onda (λ) y periodo (T). Modificado de McClements y Sundaram (1997).

medio por el cual se propaga, de manera general la velocidad es mayor en sólidos, luego en líquidos y es menor en gases (Alarcon-Rojo *et al.*, 2019).

Los transductores son una parte fundamental de los equipos de ultrasonido y consisten en dispositivos capaces de convertir energía de una variable a otra (Sekhar y Uwizeye, 2012). El componente principal es el material piezoeléctrico el cual es capaz de producir una corriente eléctrica a partir de un esfuerzo, por ejemplo, una vibración. De igual forma es capaz de generar una vibración a partir de una corriente eléctrica, generando así un pulso de ultrasonido (Zhao *et al.*, 2012; Rossing, 2014; Watson, 2015).

El uso de ultrasonido en el área de alimentos se puede dividir en dos grandes categorías: ultrasonido de alta intensidad (UAI) y ultrasonido de baja intensidad (UBI) dependiendo de su objetivo, para modificación o para análisis y caracterización de los alimentos respectivamente (McClements y Sundaram, 1997; Alarcon-Rojo *et al.*, 2015).

Velocidad de Fase Acústica

La velocidad de fase acústica (c) es la propiedad acústica más utilizada para análisis y caracterización de alimentos, como análisis de calidad de harina, calidad de leche, tiempos de coagulación de leche, detección de contaminación microbiana en leche UHT, firmeza de manzana, contenido de humedad de filete de bacalao, composición química de mezclas cárnicas de cerdo (Ghaedian *et al.*, 1997; Bakkali *et al.*, 2001; Benedito *et al.*, 2001; Elvira *et al.*, 2005, 2006; Álava *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2009), caracterización de densidad y concentración de

sales en líquidos, caracterización de productos cárnicos curados, caracterización de propiedades fundentes de grasa de jamón ibérico, caracterización de la cristalización de la grasa de cerdo (Bamberger y Greenwood, 2004; Niños *et al.*, 2010; Santacatalina *et al.*, 2011; Corona *et al.*, 2013a). Consiste en la distancia recorrida (d) en una unidad de tiempo (t) (Ecuación 7) (Khairi *et al.*, 2015).

$$c = \frac{d}{t} \quad (7)$$

La relación entre las características físicas con las características ultrasónicas para un sólido elástico isotrópico es explicada mediante la Ecuación 8 (McClements y Sundaram, 1997).

$$\left(\frac{k}{\omega}\right)^2 = \frac{\rho}{E}, \quad (8)$$

Donde:

k Es el número de onda complejo ($=\omega/c+i\alpha$)

ω Es la frecuencia angular ($2\pi f$)

E Es el módulo elástico

ρ Es la densidad

El material por el cual viaja la onda ultrasónica afecta su velocidad. Para materiales sólidos con un bajo coeficiente de atenuación, la Ecuación 8, se puede simplificar (Ecuación 9) (McClements y Sundaram, 1997).

$$\frac{1}{c^2} = \frac{\rho}{E} \quad (9)$$

Coeficiente de Atenuación

La energía acústica de una onda ultrasónica disminuye al pasar a través de un medio, a este fenómeno se le denomina atenuación, siendo la absorción y la dispersión los factores más importantes (Cheeke, 2012). La absorción se refiere al almacenamiento a nivel molecular de la energía acústica para posteriormente convertirlo a energía térmica y es atribuible a la viscosidad y al coeficiente de conductividad térmica del medio (Cheeke, 2012), mientras que la dispersión ocurre solamente en alimentos heterogéneos, cuando la onda ultrasónica se encuentra con una partícula o alguna discontinuidad, tomando una dirección distinta a la original (McClements y Sundaram, 1997). El coeficiente de atenuación se puede calcular mediante la Ecuación 10, midiendo la amplitud (A) en función de la distancia recorrida en el material (Vasighi-Shojae *et al.*, 2018).

$$\alpha = -\frac{20}{x} * \log\left(\frac{A}{A_0}\right), \quad (10)$$

Donde:

A_0 Es la amplitud inicial de la onda

x Es la distancia recorrida a través del material

Impedancia Acústica (Z)

La impedancia acústica específica es definida como la relación de la presión acústica (P) con la velocidad de la partícula (U) (Seto, 1971). Z es de gran importancia para determinar los coeficientes de transmisión y reflexión entre dos medios (Cheeke, 2012), puede ser calculada por medio de la Ecuación 11 (Kinsler *et al.*, 2000).

$$Z = \frac{P}{U} \quad (11)$$

La impedancia acústica característica puede calcularse mediante la Ecuación 12, recibe a su nombre a que describe de mejor manera las propiedades acústicas características del medio de propagación a comparación de ρ o c por separado (Kinsler *et al.*, 2000).

$$Z = \rho c \quad (12)$$

Las propiedades acústicas descritas han demostrado tener aplicación en diversos alimentos (Khairi *et al.*, 2015). El α se ha utilizado para la detección de objetos extraños como fragmentos de hueso, determinación de tiempos de coagulación de leche, firmeza de tomates y manzanas (Bakkali *et al.*, 2001; Correia *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009; Srivastava, 2014). La Z se ha utilizado para detección de objetos extraños, detección de defectos en queso, evaluación de calidad de naranjas (Zhao *et al.*, 2004; Leemans y Destain, 2009; Morrison y Abeyratne, 2014). Mientras que la c es la propiedad acústica mayormente utilizada, algunas investigaciones son detección de fragmentos de hueso, tiempos de coagulación de leche, propiedades mecánicas de queso, caracterización de productos cárnicos, detección de objetos extraños en alimentos enlatados y estimación de composición de mezclas cárnicas (Bakkali *et al.*, 2001; Benedito *et al.*, 2001; Cho y Irudayaraj, 2003; Simal *et al.*, 2003; Correia *et al.*, 2008; Meftah y Mohd Azimin, 2012; Corona *et al.*, 2013b).

Ultrasonido de Alta Intensidad

Los equipos de UAI convierten la energía eléctrica en energía mecánica, la cual es transmitida a través del medio. Parte de esta energía se pierde en forma de calor mientras que el resto se transmite en forma de energía acústica estando disponible para la formación de burbujas de cavitación acústica (Alarcon-Rojo *et al.*, 2019). Las condiciones de UAI generalmente utilizadas en el área de alimentos son intensidades entre 10 y 1000 W/cm² y frecuencias entre 20 y 100 kHz (Ashokkumar y Mason, 2007). Cuando el UAI es aplicado en un medio acuoso se generan compresiones y expansiones del medio, generando cavitación acústica, que consiste en pequeñas burbujas de vapor que colapsan en implosión, liberando energía al medio afectando el material expuesto mediante las ondas de choque (van Wijngaarden, 2016). Cuando las burbujas implotan (Figura 4), se generan grandes y veloces cambios localizados de más de 100 MPa presión y más de 1000 K de temperatura, lo cual resulta en corrientes de chorro con velocidades mayores de 100 m/s, los cuales pueden impactar en la superficie del material generando daño a macro o microescala, desde un punto de vista químico se pueden generar radicales reactivos a partir de las condiciones generadas por la implosión de las burbujas (Zupanc *et al.*, 2019). Adicionalmente las burbujas pueden generarse dentro del material provocando daños en el interior de su estructura (Mason *et al.*, 2010).

Usos de Ultrasonido de Alta Intensidad

La demanda y producción de alimentos está experimentando un auge en productos mínimamente procesados y sin inclusión de aditivos o sustancias

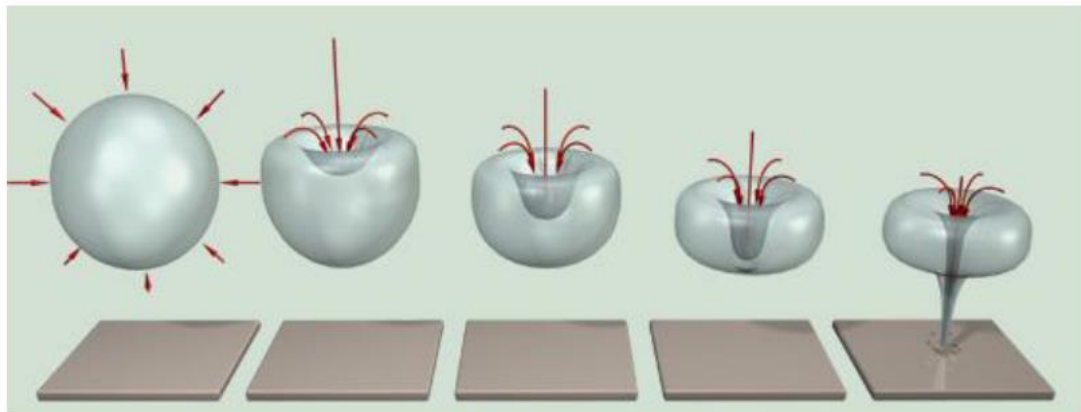


Figura 4. Generación de corrientes de chorro mediante la implosión de burbujas durante la aplicación de ultrasonido en un medio acuoso (Pardo-Rueda, 2012).

químicas artificiales (Pinton *et al.*, 2019). Esto debido a la creciente concientización de los consumidores por una vida más saludable (Pinton *et al.*, 2019). Por otro lado, los procesos convencionales de alimentos (*i.e.* el procesamiento térmico) pueden tener efectos adversos sobre su calidad, por ejemplo, la reducción de características nutricionales y funcionales. Los alimentos mínimamente procesados o tecnologías alternativas no térmicas (como el UAI) han demostrado evitar la pérdida de características sensoriales, nutritivas o funcionales de alta susceptibilidad a la desnaturalización (Peña-Gonzalez *et al.*, 2019). Por lo que el UAI está siendo investigado recientemente como alternativa de metodologías de procesamiento convencionales.

El UAI ha sido investigado en una amplia variedad de alimentos con distintas finalidades. Ha sido investigado para suplir a metodologías convencionales o para un uso conjunto en la mejora de calidad del alimento o hacer un proceso más eficiente (Mason *et al.*, 1996; Fu *et al.*, 2020). Algunas de sus ventajas es que tiene relativamente bajo costo, es de fácil operación, bajos costos de procesamiento y es amigable con el medio ambiente (Fu *et al.*, 2020).

Se han encontrado efectos benéficos al aplicar UAI en alimentos en cuanto a; mejorar la calidad, promover la transferencia de masa, incrementar la productividad, activar o inhibir enzimas, reducir carga microbiana, mejorar características organolépticas, mejorar la emulsificación, mejorar la cristalización, homogenizar, romper células y ablandar carne (McClements y Sundaram, 1997; Pohlman *et al.*, 1997b; Fernandes *et al.*, 2009; Alarcon-Rojas *et al.*, 2015; Caraveo

et al., 2015; Rodrigues *et al.*, 2015; Turantaş *et al.*, 2015; Almanza-Rubio *et al.*, 2016; Peña-Gonzalez *et al.*, 2019).

Transferencia de Masa

Secado. El secado es un proceso ampliamente utilizado para conservación de productos perecederos, consiste en la eliminación de humedad hasta un nivel en donde se minimicen las reacciones enzimáticas y el deterioro microbiano (Vega-Gálvez *et al.*, 2009), hasta una actividad de agua por debajo de 0.5 (Bonazzi y Dumoulin, 2011). Sin embargo, los tiempos de secado prolongados además de ser económicamente elevados, afectan las características de calidad del alimento (Bonazzi y Dumoulin, 2011).

El secado convectivo es el método de secado más utilizado a nivel industrial. El UAI ha sido utilizado como pretratamiento de secado convectivo de diversos productos alimenticios, con el objetivo de reducir tiempos de procesamiento (Huang *et al.*, 2020). Sin embargo, existen otros métodos de secado como; secado por liofilización, por vacío, por lecho fluidizado y deshidratado osmótico, en donde el UAI también ha mostrado su efectividad en la reducción de tiempos de secado (Souza da Silva *et al.*, 2019; Zhang y Abatzoglou, 2019).

Los efectos de la cavitación acústica son capaces de crear canales microscópicos mediante el rompimiento de la pared celular y de mantenerlos libres para el transporte de masa (Miano *et al.*, 2016). Los canales son utilizados como rutas de transporte hacia la superficie del material por lo que se eleva el

coeficiente de difusividad efectiva. Es decir, se logra una mayor rapidez de migración del agua del centro hacia la superficie del alimento (Fernandes *et al.*, 2008). Esto ayuda a la remoción de humedad dentro del material durante el procesamiento de secado convectivo (Fernandes *et al.*, 2008). Se han encontrado mejoras en los tiempos de secado de alimentos (zapote, piña, plátano) debido a un aumento de hasta un 64% en la difusividad del agua (Fernandes *et al.*, 2009; Rodrigues *et al.*, 2009; Azoubel *et al.*, 2010). El efecto del pretratamiento de UAI en las cinéticas de secado varía dependiendo del material utilizado, debido a las diferencias estructurales propias de cada alimento (Noshad *et al.*, 2012). Otras propiedades que afectan la eficiencia del ultrasonido durante el secado son; la geometría, hidrofobicidad, extensibilidad del material y la porosidad como una de las más importantes (Zhang y Abatzoglou, 2019).

Extracción. La extracción es una operación unitaria de transferencia de masa, cuyo objetivo es la separación de una sustancia a través de otras a escala molecular, siendo la extracción líquida (líquido-líquido) y la lixiviación (sólido-líquido) las formas más comunes de extracción en la industria (Treybal, 1980; Meregalli *et al.*, 2020). El UAI es investigado como herramienta alternativa a los procesos convencionales para acelerar el proceso de extracción, teniendo ventajas económicas y ambientales. Una de las formas en la que el UAI es utilizado para una mejora en la extracción, es mediante su uso como pretratamiento en un medio acuoso (Panadare *et al.*, 2019), en donde el UAI promueve la disrupción celular, facilitando la impregnación de los solventes dentro de la matriz. Esta mayor transferencia de masa mejora la extracción.

Adicionalmente, se han encontrado mejoras en la extracción de componentes de interés, como antocianinas, compuestos fenólicos y flavonoides, cuando el UAI es utilizado simultáneamente con la extracción (Meregalli *et al.*, 2020). En especial cuando se desean extraer sustancias sensibles a la temperatura (Ojha *et al.*, 2020). Sin embargo, una de las principales limitaciones es que las investigaciones son realizadas a nivel laboratorio y pueden existir problemas al escalarlo a nivel industrial (Ojha *et al.*, 2020). Sobre todo para alimentos de viscosidad elevada, en donde puede haber gran atenuación de las ondas de ultrasonido (Ojha *et al.*, 2020).

Homogenización. La homogenización de la leche es una metodología tradicional en la industria láctea, que consiste en el flujo a presión de la leche a través de pequeños orificios con un diámetro menor al de los glóbulos de grasa. La homogenización causa un rompimiento de la membrana y forma glóbulos de grasa de diámetro inferior y más homogéneos que los originales (Wang *et al.*, 2019). El UAI ha sido utilizado como una herramienta alternativa con el propósito de mejorar la homogenización de la leche, se ha observado que al ultrasonicar la leche, los glóbulos de grasa pueden pasar de un diámetro de 7 μm en promedio a un diámetro menor a 2 μm (Almanza-Rubio *et al.*, 2016). La cavitación acústica generada por el ultrasonido libera energía al medio y alterando la membrana de los glóbulos de grasa, mejorando la eficiencia de la homogenización (Carrillo-Lopez *et al.*, 2017).

La eficiencia de la homogenización de la leche depende de las condiciones de ultrasonificación (Hongyu *et al.*, 2000). La ultrasonificación debe tener cierta

energía que permita la ruptura de la membrana de glóbulos de grasa, pero también que permita la presencia de cadenas de proteínas que sirven para estabilizar el glóbulo en el medio acuoso (Hongyu *et al.*, 2000; Almanza-Rubio *et al.*, 2016). Intensidades muy bajas o tiempos reducidos no logran la reducción del tamaño de los glóbulos de grasa (Hongyu *et al.*, 2000). Mientras que intensidades muy elevadas no permiten el establecimiento de las cadenas de proteínas estabilizadoras en la membrana de glóbulos, permitiendo su coalescencia (Almanza-Rubio *et al.*, 2016). Adicionalmente, el ultrasonido ha demostrado su capacidad de homogenización en emulsiones como mayonesa y aderezos, reduciendo el tamaño de partícula, mejorando su estabilidad y reduciendo la sinéresis (Gavahian *et al.*, 2018; Kaltsa *et al.*, 2018).

Cristalización. La cristalización es un proceso utilizado en la industria química, farmacéutica y petroquímica, consiste en la nucleación y crecimiento de partículas sólidas (cristal) a partir de una fase homogénea (McCabe *et al.*, 1991). El UAI puede inducir la nucleación a niveles menores de supersaturación debido a la generación de regiones de excitación con temperaturas y presiones extremas, a causa del colapso de las burbujas de cavitación acústica (Luque de Castro y Priego-Capote, 2007). La rápida caída de temperatura contribuye con un incremento en la supersaturación, mientras que el incremento de la presión reduce la temperatura de cristalización (Luque de Castro y Priego-Capote, 2007).

Un ejemplo del uso de la cristalización en la industria alimentaria es en la remoción de lactosa del suero de leche (Sánchez-García *et al.*, 2019). El UAI facilita la cristalización de lactosa en combinación de antisolventes como etanol,

propanol o acetona. El UAI en combinación con carragenina como ligador de agua, pueden reducir la solubilidad de la lactosa, facilitando su cristalización (Sánchez-García *et al.*, 2018)

UAI en la Industria de la Carne

En años recientes existe mayor conciencia por parte de los consumidores acerca de alimentos saludables (Pinton *et al.*, 2019). Por ello, la industria de los alimentos ha buscado alternativas para el desarrollo de productos que cumplan con sus expectativas a través de la investigación (Pinton *et al.*, 2019). Las emulsiones cárnicas, como mortadelas y salchichas, son productos de alta aceptabilidad a nivel mundial. Debido a que algunas tienen altos niveles de grasa, sodio y aditivos químicos, son una buena opción como objetivo de investigación, para mejorar sus propiedades nutricionales (Owusu-Apenten, 2004). Los fosfatos son ingredientes utilizados de forma común en emulsiones cárnicas, ya que actúan con la sal para extraer y solubilizar proteínas miofibrilares. Lo cual favorece la retención de agua, grasa y su emulsificación, además de mejorar la estabilidad oxidativa, la terneza y la jugosidad de la emulsión (Pinton *et al.*, 2019). Sin embargo, el elevado consumo de fosfatos puede ser dañino para la salud (Pinton *et al.*, 2019). El uso de UAI puede favorecer la emulsificación de productos cárnicos permitiendo la reducción de fosfatos en las formulaciones hasta en un 50% (Pinton *et al.*, 2019).

El color es el parámetro más importante en la carne en términos de aceptación por el consumidor, ya que normalmente lo relaciona con grado de frescura y sabor de la carne (Tapp *et al.*, 2011). Considerando más frescas

aquellas carnes en donde los colores son rojos y brillantes a comparación con colores oscuros (Hernández *et al.*, 2019). La mioglobina es el pigmento responsable del color en carne, confiriendo colores distintos según el estado redox en que se encuentre. Sus posibles estados de desoximioglobina, oximioglobina o metamioglobina, son los responsables de colores; púrpura, rojo o café, respectivamente (Lanari y Cassens, 1991; Olivera *et al.*, 2013; Wu *et al.*, 2015a; Wu *et al.*, 2015b; Hamill y Botineştean, 2016; Maheswarappa *et al.*, 2016; Nair *et al.*, 2016). Adicionalmente, el color del producto final es influenciado por factores intrínsecos como; raza, edad, sexo, pH, entre otros, mientras que los factores extrínsecos involucrados pueden ser; temperatura, disponibilidad de oxígeno o exposición a la luz (Joseph *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2015a; Hamill y Botineştean, 2016; Maheswarappa *et al.*, 2016). El UAI puede tener un efecto adverso en las propiedades de color de carne fresca (Caraveo *et al.*, 2015). Se ha reportado reducción en las características deseables por el consumidor como colores menos rojos y más pálidos (Peña-Gonzalez *et al.*, 2019).

Modificación de Textura por UAI

La textura de la carne es una de las características de calidad más importantes considerada por el consumidor (Lyng *et al.*, 1997; Zhao *et al.*, 2012) por lo que afecta en gran medida su aceptación o rechazo al momento de consumo (Llull *et al.*, 2002a; Coll Cardenas y Olivera, 2016). La propiedad de textura más importante para el consumidor es la terniza o suavidad, la cual se refiere a la facilidad de masticar la carne hasta el punto en que esta lista para deglutir (Coll Cardenas y Olivera, 2016).

La textura de la carne es afectada por varios factores, entre ellos los componentes intrínsecos como el contenido de proteína, grasa, tejido conectivo y estado y contenido del agua (Coll Cardenas y Olivera, 2016). Se considera a la fracción de tejido conectivo y la fracción miofibrilar como los principales responsables de las características de terneza o suavidad (Pohlman *et al.*, 1997c; Zhao *et al.*, 2012; Coll Cardenas y Olivera, 2016). La cantidad y calidad de estos componentes de la carne depende a su vez de factores o eventos *pre-mortem* o *post-mortem*, tales como; especie, genotipo, edad del animal al momento del sacrificio, estrés del animal, nutrición, condiciones del sacrificio, días de maduración, metodologías de empaque y almacenamiento (Warner *et al.*, 2017).

La mayoría de los consumidores están dispuestos a pagar una cantidad más elevada con la garantía de obtener carne con mejores características de textura (Coll Cardenas y Olivera, 2016). En la actualidad existen métodos tradicionales mejoradores de textura de carne, los cuales pueden ser físicos, enzimáticos o químicos (Kim *et al.*, 2013). En los métodos físicos la carne es sometida a un estrés mecánico con la finalidad de romper proteínas estructurales causando su ablandamiento (Pohlman *et al.*, 1997a; Obuz *et al.*, 2014). En los métodos enzimáticos, la carne es tratada con enzimas, generalmente papaína, bromelina o ficina, las cuales rompen o desnaturalizan proteínas (como las de la línea Z) que dan firmeza o estructura al músculo (Zhao *et al.*, 2012). La temperatura óptima de estas enzimas es superior a 50°C pero como generalmente son aplicadas a temperatura ambiente momentos antes de la cocción, su eficiencia del 10% (Zhao *et al.*, 2012). Estas enzimas son

termoestables por lo que no se inactivan durante el cocimiento, pudiendo generarse un sobre ablandamiento (Zhao *et al.*, 2012). Por último la metodología química consiste en la utilización de compuestos químicos, el marinado es un ejemplo en donde se agregan ingredientes en donde una de las funciones es disminuir el pH lo que resulta en desnaturalización de proteínas provocando hinchamiento de la carne, mientras que la adición de sal mejora la capacidad de retención de agua, obteniendo una mejora en su terneza (Kim *et al.*, 2013).

Los métodos tradicionales de ablandamiento de carne ya sean químicos, físicos o enzimáticos tienen desventajas, como, modificación del sabor, la apariencia o son tardados (Jayasooriya *et al.*, 2007). Por lo que es importante investigar procesos que generen productos con características deseables de textura sin afectar sus características de calidad, así como procesos que faciliten su cuantificación y medición en la línea de producción o idealmente su predicción. La utilización de métodos alternativos como el ultrasonido puede dar lugar a una serie de cambios benéficos en los productos cárnicos tales como: mejora en terneza, características fisicoquímicas, cocinado, procesamiento y reducción de carga microbiana (Alarcon-Rojo *et al.*, 2015).

En términos de textura de carne los reportes del uso de UAI son contradictorios. Los resultados favorables describen mejora en la terneza, maduración y reducción de pérdidas durante la cocción, sin afectar otras características de calidad (Chang *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2014; Peña-Gonzalez *et al.*, 2019). Por otro lado, otros autores no reportan efectos en cuanto a mejora de terneza, atribuido a que las condiciones de ultrasonificación no fueron lo

suficientemente intensas (Lyng *et al.*, 1997; Pohlman *et al.*, 1997b; Sikes *et al.*, 2014), o incluso mencionan un aumento en la dureza al aplicar UAI a carne de puerco en solución salina, atribuido a un aumento en la ganancia de sal (Ozuna *et al.*, 2013).

El Cuadro 1, enlista condiciones de procesamiento de UAI, efecto observado y metodologías de medición de textura en muestras cárnicas. El efecto del UAI en la carne es comúnmente atribuido a los efectos físicos de la cavitación acústica, como el daño en el perimio (Roberts, 1991), la ruptura de la estructura de proteínas miofibrilares y de colágeno (Peña-Gonzalez *et al.*, 2019) resultando en mayor índice de fragmentación miofibrilar (Kang *et al.*, 2017).

Adicionalmente al daño por cavitación acústica, la textura de la carne puede mejorarse por actividad enzimática. El UAI puede favorecer la actividad enzimática endógena mediante la liberación de lisosomas, catepsinas y calcio intracelular activando las calpaínas (Peña-Gonzalez *et al.*, 2019). Mientras que al aplicar UAI en conjunto con papaína se encontró mayor actividad enzimática, resultando en una disminución de la dureza de la carne (Barekat y Soltanizadeh, 2017). Al aplicar UAI en muestras de carne de bovino después de distintos tiempos de maduración se encontró menor fuerza de corte por la metodología Warner-Bratzler y menor dureza por análisis de perfil de textura (TPA). La mejora en textura es atribuida al efecto de cavitación acústica generado al aplicar UAI en un medio acuoso, causando una mayor fragmentación de las proteínas de la carne, reducción en el tamaño de los fascículos, mayor espacio interfibrilar y un menor grosor del endomisio. Sin embargo, la carne con aplicación de ultrasonido

Cuadro 1.- Efecto de ultrasonido de alta intensidad sobre textura de carne

Muestra	Tratamiento de US	Efecto	Medición de textura	Autores
Bovino <i>Longissimus lumborum</i>	20 kHz, 100 y 300 W, 10- 30 min en conjunto con papaína	Mejora de terneza, valor de WBSF mínimo a los 20 min, reducción de dureza con ultrasonido	WB y TPA	(Barekat y Soltanizadeh, 2017)
Bovino <i>Semitendinosus</i>	40 kHz, 1500 W, 10-60 min	Sin efecto significativo del US (P>0.05)	TPA	(Chang <i>et al.</i> , 2012)
Bovino <i>Semitendinosus</i>	40 kHz, 1500 W, 10- 60 min.	Mejora de terneza	WB	(Chang <i>et al.</i> , 2015)
Carne de conejo	40 kHz, 110	Mayor dureza	Prueba de penetración	(Gómez-Salazar <i>et al.</i> , 2018)
<i>Semimembranosus</i>	45 kHz, 2 W/cm2, 120 s.	Mejora de terneza		(Dolatowski y Stadnik, 2005)
Porcino <i>Longissimus dorsi</i>	25 kHz, 0.2, 0.4 W/cm2	Sin efecto significativo del US (P>0.05)		(Gambuteanu y Alexe, 2013)
Bovino <i>Semimembranosus</i>	2.6 MHz, 10W/cm2, 30 s	Sin efecto significativo del US (P>0.05)	Compresión	(Got <i>et al.</i> , 1999)
Calamar gigante	20–140 kHz, 45–360W, 10–50 min	Mejora de terneza	TPA	(Hu <i>et al.</i> , 2014)
<i>Longissimus lumborum et thoracis, Semitendinosus</i>	(24 kHz, 12 W/cm2) por hasta 240 s	Mejora de terneza	WB y compresión	(Jayasooriya <i>et al.</i> , 2007)
Porcino <i>Biceps femoris</i>	1 MHz, 150 -500 W, 25 kHz, 40 min	Sin efecto significativo del US (P>0.05)	WB	(Jorgensen <i>et al.</i> , 2008)
Bovino <i>Longissimus dorsi</i>	150-300 W, 30-120 min,	Mejora de terneza	WB	(Kang <i>et al.</i> , 2017)
Pechuga de ganso	300-600 W, 40 kHz, 30 min	Mejora de terneza	WB	(Li <i>et al.</i> , 2018)

Muestra	Tratamiento de US	Efecto	Medición de textura	Autores
Bovino <i>Longissimus thoracis, Semimembranosus, Biceps femoris</i>	0.29-0.62 W cm ⁻² , 30-47 kHz, 5-90 min	Sin efecto significativo (P>0.05)	Volodkevich	(Lyng <i>et al.</i> , 1997)
<i>Longissimus thoracis</i> et <i>lumborum, Semimembranosus</i>	20 kHz, 62W/cm ² , periodos de 15 s en cada parte, 2-3.25 h totales	Sin efecto significativo (P>0.05)	Volodkevich	(Lyng <i>et al.</i> , 1998)
Bovino <i>Longissimus dorsi</i>	40 kHz, 11 Wcm ² , 60 min	Mejora de terneza	WB	(Peña-González <i>et al.</i> , 2017)
Bovino <i>Longissimus dorsi</i>	(40 kHz, 11 W/cm ²) 60 min	Mejora en terneza instrumental y sensorial, WBSF	WB, TPA, sensorial	(Peña-Gonzalez <i>et al.</i> , 2019)
Bovino <i>Pectoralis</i>	22 W/cm ² , 20 kHz, 5-10 min	Sin efecto significativo (P>0.05)	WB	(Pohlman <i>et al.</i> , 1997b)
Bovino <i>Longissimus</i> y <i>Pectoralis</i>	20 kHz, 1,000 W	Mejora de terneza	Lee-Kramer	(Pohlman <i>et al.</i> , 1997c)
Jamón curado		Mayor dureza	Ruptura por compresión	(Reynolds <i>et al.</i> , 1978)
Sirloin	2 W cm ⁻² , 40 kHz, 2 h	Mejora de terneza		(Roberts, 1991)
<i>Semitendinosus</i>	2-16 min, 25.9 kHz	Sin efecto significativo (P>0.05)	WB	(Smith <i>et al.</i> , 1991)
Pechuga de pollo	Baño ultrasonico, 20 min	Sin efecto significativo (P>0.05)	Allo-Kramer	(Smith, 2011)
<i>Semimembranosus</i>	45 kHz, 2 W/cm ² , 120 s.	Mejora de terneza, después de 48 h de maduración	WB	(Stadnik y Dolatowski, 2011)
Bovino Shank (Pierna)	150-3300 W/m ² , 6 min,	Sin efecto significativo (P>0.05)	WB	(Wan <i>et al.</i> , 2018)

Muestra	Tratamiento de US	Efecto	Medición de textura	Autores
Bovino <i>Semitendinosus</i>	20 kHz, 25 W·cm ⁻² , 20 o 40 min,	Mejora de terneza después del día 7 de maduración	WB	(Wang <i>et al.</i> , 2018)
Pechuga de ganso	20 kHz, 1200 W, 10-30 min	Mejora en terneza	Meullenet- Owens	(Zou <i>et al.</i> , 2018b)
Bovino Flank (Falda)	20 kHz, 0-1000 W, 80-120 min	Mejora en terneza	TPA	(Zou <i>et al.</i> , 2018a)

WB = Warner-Bratzler

TPA = Análisis de perfil de textura

también presentó menor saturación (Croma), correspondiente a colores pálidos no deseables por el consumidor, un aumento en los valores de ángulo Hue, correspondiente a tonalidades menos rojas y más naranjas (Peña-Gonzalez *et al.*, 2019).

Descontaminación por UAI

El UAI ha sido estudiado con la finalidad de disminuir la carga microbiana, aumentando la vida en anaquel de los alimentos (Gao *et al.*, 2014a). La frecuencia ultrasónica define el principal mecanismo de acción del UAI (Zupanc *et al.*, 2019). Las frecuencias bajas cercanas a 20 kHz y hasta 100 kHz producen menor cantidad de burbujas de vapor, pero de gran tamaño, que al implotar liberan gran cantidad de energía al medio (Zupanc *et al.*, 2019). Al utilizar frecuencias bajas de ultrasonido se favorecen los efectos físicos, mientras que, al utilizar frecuencias altas, mayores a 100 kHz, se producen mayor cantidad de burbujas de vapor, sin embargo, al implotar liberan menor cantidad de energía al medio (Zupanc *et al.*, 2019). Las frecuencias ultrasónicas altas favorecen la formación y dispersión de radicales libres y productos moleculares en el medio por lo que se le atribuyen los efectos químicos como principal forma de acción (Zupanc *et al.*, 2019). Sin embargo, frecuencias muy elevadas dificultan la formación de burbujas de cavitación en donde por arriba de 2.5 MHz no se logra la formación de burbujas de cavitación (Alliger, 1975).

La reducción de carga microbiana por ultrasonido es un efecto sinérgico entre los efectos físicos y químicos generados a partir de la cavitación acústica. Los efectos físicos dañan el microorganismo mediante altas presiones y

temperaturas concentradas en áreas pequeñas, fuerzas de corte, ondas de choque y microchorros que impactan sobre la superficie de la célula (Gao *et al.*, 2014b), alterando su funcionamiento y haciéndolo más susceptible a la acción de los efectos químicos, ya que se facilita el acceso de los radicales libres y productos moleculares al interior de la célula. Sin embargo, el efecto final sobre los microorganismos depende de factores como: las condiciones de ultrasonificación (intensidad, tiempo, frecuencia), el medio en el cual es aplicado el ultrasonido, así como de los microorganismos presentes (Zupanc *et al.*, 2019).

La carne es un alimento perecedero por lo que deficiencias en su procesamiento, almacenamiento y distribución pueden generar pérdidas económicas y representar un peligro para el consumidor, debido a la multiplicación de organismos patógenos y de descomposición (Turantaş *et al.*, 2015). El deterioro (cambios de color, sabor, olor) asociado al crecimiento de microorganismos y la oxidación de lípidos son los principales responsables del deterioro de la carne (Lawrie y Ledward, 2006).

El UAI es una herramienta no térmica para disminuir la carga microbiana en el área de cárnicos (Turantaş *et al.*, 2015). Debido a que el efecto individual del UAI sobre la carga microbiana es bajo, este suele combinarse con otras tecnologías con el objetivo de aumentar su actividad antimicrobiana. (Kassem *et al.*, 2018). Algunas de las tecnologías utilizadas en combinación con UAI son altas presiones, pulsos de campos eléctricos, irradiación, compuestos químicos y temperatura (Huang *et al.*, 2006; Bastarrachea *et al.*, 2017; Carrillo-Lopez *et al.*,

2017; Li *et al.*, 2017; Tremarin *et al.*, 2017; Dolan *et al.*, 2018; Evelyn y Silva, 2018).

Al utilizar UAI por 10 s en combinación con vapor en pechuga de pollo se encontró una reducción adicional en el conteo de *Campylobacter* de más de 1 log unidades a comparación del tratamiento solo con vapor (Musavian *et al.*, 2014). Sin embargo, en otro estudio no se encontró diferencia significativa en la reducción de *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* y *Escherichia coli* en carne de cerdo al aplicar UAI en combinación con vapor por tiempos entre 0.5 y 2 s, posiblemente por los cortos tiempos de exposición (Morild *et al.*, 2011).

El UAI mostró tener mayor actividad de descontaminación de la superficie de ala de pollo, en contra de *Salmonella enterica*, *E. coli*, *Proteus spp* y *Pseudomonas fluorescens* al aumentar su tiempo de procesamiento de 3 min a 6 min en agua destilada (Kordowska-Wiater y Stasiak, 2011). La combinación de UAI con ácido láctico al 1 y 3% ha demostrado tener mayor efectividad contra algunos microorganismos como; *Salmonella* (Stasiak *et al.*, 2007; Kordowska-Wiater y Stasiak, 2011), *Campylobacter jejuni* (Kassem *et al.*, 2018) y *P. fluorescens* (Kordowska-Wiater y Stasiak, 2011) a comparación de ultrasonido exclusivamente.

El efecto antimicrobiano del UAI depende entre otros factores de la intensidad, tiempo y el medio en el cual es aplicado, así como del microorganismo. La reducción de la carga microbiana es atribuida a que el UAI facilita la penetración del vapor o agente antimicrobiano en cavidades de la superficie del tejido en donde los microorganismos están normalmente protegidos

y a un daño en la membrana exterior de los microorganismos haciéndolos más susceptibles a otras metodologías de disminución de carga microbiana (Turantaş *et al.*, 2015).

Ultrasonido de Baja Intensidad

A partir del hundimiento del Titanic en 1912 surgieron grandes esfuerzos humanos para detectar objetos bajo el agua, empezando el desarrollo del UBI en el año 1915 durante la I Guerra Mundial. Langevin es considerado pionero y padre del campo de ultrasonido, quien realizó experimentos en la Escuela de Física y Química de París, Francia, que comprendían experimentos de hasta 2 km por el río Sena. Estos experimentos estaban incluidos en un programa de detección de submarinos elaborado por Francia e Inglaterra (Cheeke, 2012).

El UBI utiliza intensidades menores a 1 W/cm^2 y frecuencias mayores a 1 MHz, este tipo de ultrasonido es no destructivo, es una metodología rápida que puede ser automatizada además de ser relativamente económica. En el área de alimentos es utilizado para su análisis y para su caracterización. La metodología consiste en propagar la onda ultrasónica a través del material, determinando las propiedades del material mediante la medición de parámetros ultrasónicos tales como: velocidad de fase acústica (c) [m/s], coeficiente de atenuación (α) [dB/mm] o impedancia acústica (Z) [Rayls] (McClements y Sundaram, 1997; Benedito *et al.*, 2001; Llull *et al.*, 2002a; Fulladosa *et al.*, 2015).

Usos de Ultrasonido de Baja Intensidad

El ultrasonido de baja intensidad puede ser utilizado para el análisis, caracterización o para la predicción de algún atributo del alimento de manera no destructiva. Los estudios de UBI en diversos productos cárnicos generalmente miden la velocidad de fase acústica debido a que es más simple y confiable, algunos estudios son: caracterización de productos cárnicos curados secos, composición de mezclas de carne, contenido de grasa y sal en jamón, contenido de sal en carne de cerdo, predicción de contenido de carne magra y grado de marmoleo en *Longissimus dorsi* y evaluación de textura en embutidos (Haumschild y Carlson, 1983; Benedito *et al.*, 2001; Llull *et al.*, 2002a; Llull *et al.*, 2002b; Fortin *et al.*, 2004; Corona *et al.*, 2013; Fulladosa *et al.*, 2015; García-Pérez *et al.*, 2015; de Prados *et al.*, 2015a; de Prados *et al.*, 2015b; De Prados *et al.*, 2016).

Las metodologías convencionales seguidas para la obtención de información de textura de muestras cárnicas son destructivas y demandantes de tiempo. Estas pueden dividirse en dos categorías: determinación instrumental y evaluación sensorial. Existen tres tipos de pruebas sensoriales. Las pruebas afectivas, son aplicadas en consumidores y se mide el nivel de agrado personal sobre algún alimento. Las pruebas discriminativas, en las que se utiliza un panel entrenado, consiste en determinar diferencias de un atributo entre dos o más muestras. Las pruebas descriptivas, en las que el entrenamiento del panel es más intenso, pretende medir de manera objetiva alguna propiedad del alimento (Hansen *et al.*, 2004; Coll Cardenas y Olivera, 2016). Sin embargo, es una

metodología que demanda tiempo y recursos humanos y puede llegar a ser complicada según el nivel de entrenamiento requerido por el panel sensorial. La cuantificación analítica de la textura consiste en simular la masticación instrumentalmente (McClements y Sundaram, 1997; Llull *et al.*, 2002a; Coll Cardenas y Olivera, 2016). Existen varias pruebas como; Warner-Bratzler, 5 Blades, Punch and Die, Volodkevich, entre otras. Los resultados obtenidos son expresados como fuerza de corte [N], que consiste en la fuerza máxima registrada durante la prueba. También pueden ser expresados como energía de corte [J], la cual consiste en calcular el área bajo la curva desde el inicio hasta el final de la prueba (Hansen *et al.*, 2004; Coll Cardenas y Olivera, 2016).

El ultrasonido de baja intensidad ha sido utilizado para evaluar la textura de varios productos alimenticios, mediante la medición de sus propiedades acústicas (Cuadro 2). Entre estos productos se encuentran aguacates, zanahorias, queso y tejido graso, así como en productos cárnicos tales como jamón, sobrasada, carne de puerco, carne molida, (Benedito *et al.*, 2001; Llull *et al.*, 2002a; Llull *et al.*, 2002b; Corona *et al.*, 2013).

Se han realizado investigaciones en productos cárnicos en donde se ha encontrado que existe cierta dependencia entre la terneza de dichos productos con la velocidad de fase acústica (Cuadro 3). Se reporta que existe una relación lineal entre la velocidad de fase acústica y la raíz cuadrada de la textura (dureza), generalmente expresada como fuerza máxima en Newtons. Las ecuaciones obtenidas pueden ser potencialmente utilizadas para evaluar la textura de alimentos de origen animal satisfactoriamente (Corona *et al.*, 2013)

Cuadro 2. Propiedades ultrasónicas de algunos alimentos (McClements y Sundaram, 1997)

Alimento	Frecuencia (MHz)	Velocidad (m/s)	Impedancia ($\times 10^6$ kg m/s)	Atenuación (Np/m)
Agua destilada	5	1528	1.53	
Grasa	5	1440	1.62	
Hígado		1590	1.64-1.68	
Músculo		1590	1.65-1.74	
Queso	0.05-0.93	1365- 1645	1.3-1.6	
Pescado	1	1550	1.6	7

Cuadro 3.- Predicción de textura en productos cárnicos

Muestra	Propiedad acústica medida	Relación lineal	R ²	Referencia
<i>Biceps femoris</i> , <i>Semitendinosus</i> y <i>Gluteal</i> de cerdo	c	c=1511±15 + 164±10 * MF ^{0.5}	0.84	(Corona <i>et al.</i> , 2013 ^a)
<i>Rectus femoris</i> , <i>Vastus lateralis</i> y <i>Vastus medialis</i> de cerdo	c	c=1502±19 + 178±13 * MF ^{0.5}	0.87	(Corona <i>et al.</i> , 2013 ^a)
Sobrasada	c	c=1556.3 + 15.23 * MF ^{0.5}	0.946	(Llull <i>et al.</i> , 2002 ^a)
		c=1550.9 + 6.07 * CW ^{0.5}	0.943	
Sobrasada	c	c=0.568 * MF ^{0.5} - 1.709 Φ _w + 1674.7	0.946	(Llull <i>et al.</i> , 2002 ^b)
		c=0.202* CW ^{0.5} - 1.713 Φ _w + 1675	0.947	

c= Velocidad de fase acústica
MF= Dureza
CW= Trabajo de compresión
Φ_w=Contenido de humedad

Modos de Ultrasonido de Baja Intensidad

En el ultrasonido modo A es posible la medición de propiedades acústicas con base a la amplitud recibida por el sensor ultrasónico, ya sea por transmisión o por reflexión. El modo A es útil para la caracterización de materiales o muestras, en donde no es necesaria la formación de imágenes. El ultrasonido modo B o modo Brillo asigna cierto brillo a la amplitud recibida por el sensor acústico, permitiendo realizar imágenes. Este tipo de ultrasonido es utilizado comúnmente para ecografía médica en mujeres embarazadas, mediante modo B en dos dimensiones. En el ultrasonido modo M o modo Movimiento, se fija el sensor ultrasónico para evaluar materiales en movimiento como por ejemplo el corazón, obteniendo una gráfica de profundidad contra el tiempo (Rossing, 2014).

Aspectos a Considerar Durante las Mediciones

La velocidad de fase acústica depende en gran medida de la temperatura (Povey y McClements, 1988). Por ello, al realizar mediciones de UBI, es de suma importancia controlar la temperatura durante la medición de la velocidad de fase acústica, obteniendo aumentos de $3 \text{ m/s}^{\circ}\text{C}$ en agua (Benedito *et al.*, 2001; Llull *et al.*, 2002a; Corona *et al.*, 2013b). Incrementos similares en la velocidad de fase acústica con la temperatura se han observado con productos de alta humedad, como carne magra. Sin embargo, en productos cárnicos altos en grasa, se ha observado una disminución en la velocidad a medida que la temperatura aumenta (Llull *et al.*, 2002a). La velocidad de fase acústica depende del contenido lipídico, por lo que algunas investigaciones se han enfocado a la predicción de contenido de grasa (Llull *et al.*, 2002a; Corona *et al.*, 2013).

La metodología de medición de la velocidad de fase acústica es una fuente de variación, ya que se obtienen resultados diferentes dependiendo de la metodología utilizada para su obtención. Existen varias metodologías de medición de velocidad de fase acústica, como el método absoluto de cruce por cero, método de pulso de tres vías, por variación de grosor, amplitud máxima positiva, el método relativo (Nowak y Markowski, 2013), umbral de energía y correlación cruzada. Para evitar variación de las mediciones por UBI y para que las investigaciones sean reproducibles es importante controlar al máximo las condiciones de medición y especificar las condiciones utilizadas como temperatura, presión, frecuencia ultrasónica y metodología de medición.

LITERATURA CITADA

- Alarcon-Rojo, A. D., H. Janacua, J. C. Rodriguez, L. Paniwnyk, y T. J. Mason. 2015. Power ultrasound in meat processing. *Meat Sci.* 107:86–93.
- Alarcon-Rojo, A. D., L. M. Carrillo-Lopez, R. Reyes-Villagrana, M. Huerta-Jiménez, y I. A. Garcia-Galicia. 2019. Ultrasound and meat quality: A Review. *Ultrason. Sonochem.* 55:369–382.
- Álava, J. M., S. S. Sahi, J. García-Álvarez, A. Turó, J. A. Chávez, M. J. García, y J. Salazar. 2007. Use of ultrasound for the determination of flour quality. *Ultrasonics* 46:270–276.
- Alliger, H. 1975. Ultrasonic Disruption. *Am. Lab.* 10:75–85.
- Almanza-Rubio, J. L., N. Gutiérrez-Méndez, M. Y. Leal-Ramos, D. Sepulveda, y I. Salmeron. 2016. Modification of the textural and rheological properties of cream cheese using thermosonicated milk. *J. Food Eng.* 168:223–230.
- Ashokkumar, M., y T. J. Mason. 2007. Sonochemistry. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.
- Azoubel, P. M., M. do A. M. Baima, M. da R. Amorim, y S. S. B. Oliveira. 2010. Effect of ultrasound on banana cv Pacovan drying kinetics. *J. Food Eng.* 97:194–198.
- Bakkali, F., A. Moudden, B. Faiz, A. Amghar, G. Maze, F. Montero De Espinosa, y M. Akhnak. 2001. Ultrasonic measurement of milk coagulation time. *Meas. Sci. Technol.* 12:2154–2159.
- Bamberger, J. A., y M. S. Greenwood. 2004. Non-invasive characterization of fluid foodstuffs based on ultrasonic measurements. *Food Res. Int.* 37:621–625.
- Barekat, S., y N. Soltanizadeh. 2017. Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 39:223–229.
- Bastarrachea, L. J., M. Walsh, S. P. Wrenn, y R. V. Tikekar. 2017. Enhanced antimicrobial effect of ultrasound by the food colorant Erythrosin B. *Food Res. Int.* 100:344–351.
- Benedito, J., J. A. Carcel, C. Rossello, y A. Mulet. 2001. Composition assessment of raw meat mixtures using ultrasonics. *Meat Sci.* 57:365–370.
- Boistier-Marquis, E., N. Lagsir-Oulahal, y M. Callard. 1999. Applications des ultrasons de puissance en industries alimentaires. *Ind. Aliment. Agric.* 116:23–31.
- Bonazzi, C., y E. Dumoulin. 2011. Quality Changes in Food Materials as Influenced by Drying Processes. 1–20 in *Modern Drying Technology*. vol. 3.
- Caraveo, O., A. D. Alarcon-Rojo, A. Renteria, 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.
- Carrillo-Lopez, L. M., A. D. Alarcon-Rojo, L. Luna-Rodriguez, y R. Reyes-Villagrana. 2017. Modification of Food Systems by Ultrasound. *J. Food Qual.* 2017:1–12.
- Chang, H.-J., 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, C.-B. Li, y M. Huang. 2012. Effects of Characteristics Changes of Collagen on Meat Physicochemical Properties of Beef Semitendinosus Muscle during Ultrasonic Processing. *Food Bioproc. Tech.* 5:285–297.
- Cheeke, J. D. N. 2012. Fundamentals and Applications of Ultrasonic Waves, Second Edition, Second Edi. CRC Press. Taylor & Francis Group, 1–484.
- Cho, B. K., y J. M. K. Irudayaraj. 2003. A noncontact ultrasound approach for mechanical property determination of cheeses. *J. Food Sci.* 68:2243–2247.
- Coll Cardenas, F. J., y D. F. Olivera. 2016. Texture Changes in Meat During Storage. Reference module in food science.
- Corona, E., J. V. Garcia-Perez, T. E. G. Alvarez-arenas, N. Watson, M. J. W. W. Povey, J. Benedito, T. E. Gomez Alvarez-Arenas, N. Watson, M. J. W. W. Povey, y J. Benedito. 2013a. Advances in the ultrasound characterization of dry-cured meat products. *J. Food Eng.* 119:464–470.
- Corona, E., J. V. García-Pérez, A. Mulet, y J. Benedito. 2013b. Ultrasonic assessment of textural changes in vacuum packaged sliced Iberian ham induced by high pressure treatment or cold storage. *Meat Sci.* 95:389–395.
- Correia, L. R., G. S. Mittal, y O. A. Basir. 2008. Ultrasonic detection of bone fragment in mechanically deboned chicken breasts. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9:109–115.
- Dolan, H. L., L. J. Bastarrachea, y R. V. Tikekar. 2018. Inactivation of *Listeria innocua* by a combined treatment of low-frequency ultrasound and zinc oxide. *LWT - Food Sci. Technol.* 88:146–151.
- Dolatowski, Z. J., y J. Stadnik. 2005. Effect of Sonication on Technological Properties of Beef. *УДК 577.322+63:504.055 2:177–188.*
- Elvira, L., L. Sampedro, J. Matesanz, Y. Gómez-Ullate, P. Resa, J. R. Iglesias, F. J. Echevarría, y F. Montero De Espinosa. 2005. Non-invasive and non-destructive ultrasonic technique for the detection of microbial contamination in packed UHT milk. *Food Res. Int.* 38:631–638.
- Elvira, L., L. Sampedro, F. Montero de Espinosa, J. Matesanz, Y. Gómez-Ullate, P. Resa, F. J. Echevarría, y J. R. Iglesias. 2006. Eight-channel ultrasonic

- device for non-invasive quality evaluation in packed milk. *Ultrasonics* 45:92–99.
- Evelyn, y F. V. M. Silva. 2018. Differences in the resistance of microbial spores to thermosonication, high pressure thermal processing and thermal treatment alone. *J. Food Eng.* 222:292–297.
- Fernandes, F. A. N., M. I. Gallão, y S. Rodrigues. 2009. Effect of osmosis and ultrasound on pineapple cell tissue structure during dehydration. *J. Food Eng.* 90:186–190.
- Fernandes, F. A. N. N., F. E. Linhares, y S. Rodrigues. 2008. Ultrasound as pre-treatment for drying of pineapple. *Ultrason. Sonochem.* 15:1049–1054.
- Fortin, A., A. K. W. Tong, y W. M. Robertson. 2004. Evaluation of three ultrasound instruments, CVT-2, UltraFom 300 and AutoFom for predicting salable meat yield and weight of lean in the primals of pork carcasses. *Meat Sci.* 68:537–49.
- Fu, X., T. Belwal, G. Cravotto, y Z. Luo. 2020. Sono-physical and sono-chemical effects of ultrasound: Primary applications in extraction and freezing operations and influence on food components. *Ultrason. Sonochem.* 60: 1–23.
- Fulladosa, E., M. De Prados, J. V. García-Pérez, J. Benedito, I. Muñoz, J. Arnau, y P. Gou. 2015. X-ray absorptiometry and ultrasound technologies for non-destructive compositional analysis of dry-cured ham. *J. Food Eng.* 155:62–68.
- Gambuteanu, C., y P. Alexe. 2013. Effects of ultrasound assisted thawing on microbiological, chemical and technological properties of unpackaged pork *Longissimus dorsi*. *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Fascicle VI: Food Technol.* 37:98–107.
- Gao, S., G. D. Lewis, M. Ashokkumar, y Y. Hemar. 2014a. Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 1. Effect of growth phase and capsule properties of the bacteria. *Ultrason. Sonochem.* 21:446–453.
- Gao, S., G. D. Lewis, M. Ashokkumar, y Y. Hemar. 2014b. Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: 2. A simple model for the inactivation mechanism. *Ultrason. Sonochem.* 21:454–460.
- García-Pérez, J. V., M. De Prados, y J. Benedito. 2017. Characterization of Pork Meat Products using Ultrasound. 86–114 *En Ultrasound in Food Processing*. John Wiley & Sons, Ltd.
- García-Pérez, J. V., M. De Prados, G. Martínez-Escrivá, R. González, A. Mulet, y J. Benedito. 2015. Exploring the use of Low-intensity Ultrasonics as a Tool for Assessing the Salt Content in Pork Meat Products. *Phys. Procedia* 70:837–840.

- Gavahian, M., Y. M. Chen, A. Mousavi Khaneghah, F. J. Barba, y B. B. Yang. 2018. In-pack sonication technique for edible emulsions: Understanding the impact of acacia gum and lecithin emulsifiers and ultrasound homogenization on salad dressing emulsions stability. *Food Hydrocoll.* 83:79–87.
- Ghaedian, R., E. A. Decker, y D. J. McClements. 1997. Use of ultrasound to determine cod fillet composition. *J. Food Sci.* 62:500–504.
- Gómez-Salazar, J. A., D. A. Ochoa-Montes, A. Cerón-García, C. Ozuna, y M. E. Sosa-Morales. 2018. Effect of Acid Marination Assisted by Power Ultrasound on the Quality of Rabbit Meat. *J. Food Qual.* 2018:1–6.
- Got, F., 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 physico-chemical properties of beef. *Meat Sci.* 51:35–42.
- Graff, K. F. 1981. A History of Ultrasonics. ACADEMIC PRESS, INC., 1–97.
- Grill, L., F. Ringdorfer, R. Baumung, y B. Fuerst-Waltl. 2015. Evaluation of ultrasound scanning to predict carcass composition of Austrian meat sheep. *Small Rumin. Res.* 123:260–268.
- Hamill, R., y C. Botineştean. 2016. Meat: Structure. Elsevier, Dublin, Ireland, 701–710.
- Hansen, S., T. Hansen, M. D. Aaslyng, y D. V. Byrne. 2004. Sensory and instrumental analysis of longitudinal and transverse textural variation in pork longissimus dorsi. *Meat Sci.* 68:611–629.
- Haumschild, D. J., y D. L. Carlson. 1983. An ultrasonic Bragg scattering technique for the quantitative characterization of marbling in beef. *Ultrasonics* 21:226–233.
- Hernández, B., C. Sáenz Gamasa, J. M. Diñeiro Rubial, y C. Alberdi Odriozola. 2019. CIELAB color paths during meat shelf life. *Meat Sci.* 157:107889.
- Hongyu, W., G. J. Hulbert, y J. R. Mount. 2000. Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 1:211–218.
- Hu, Y., H. Yu, K. Dong, S. Yang, X. Ye, y S. Chen. 2014. Analysis of the tenderisation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) meat by ultrasonic treatment using response surface methodology. *Food Chem.* 160:219–25.
- Huang, D., K. Men, D. Li, T. Wen, Z. Gong, B. Sunden, y Z. Wu. 2020. Application of ultrasound technology in the drying of food products. *Ultrason. Sonochem.* 63:104950.
- Huang, E., G. S. Mittal, y M. W. Griffiths. 2006. Inactivation of Salmonella enteritidis in Liquid Whole Egg using Combination Treatments of Pulsed Electric Field, High Pressure and Ultrasound. *Biosyst. Eng.* 94:403–413.

- 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.
- Jorgensen, a. S., M. Christensen, y P. Ertbjerg. 2008. Marination with kiwifruit powder followed by power ultrasound tenderizes porcine M. biceps femoris. *Icomst.Helsinki.Fi* 10–12.
- Joseph, P., M. N. Nair, y S. P. Suman. 2015. Application of proteomics to characterize and improve color and oxidative stability of muscle foods. *Food Res. Int.* 76:938–945.
- Kaltsa, O., S. Yanniotis, M. Polissiou, y I. Mandala. 2018. Stability, physical properties and acceptance of salad dressings containing saffron (*Crocus sativus*) or pomegranate juice powder as affected by high shear (HS) and ultrasonication (US) process. *Lwt.* 97:404–413.
- Kamruzzaman, M., G. ElMasry, D.-W. Sun, y P. Allen. 2012. Prediction of some quality attributes of lamb meat using near-infrared hyperspectral imaging and multivariate analysis. *Anal. Chim. Acta.* 714:57–67.
- Kang, D. C., A. R. Wang, G. H. Zhou, W. G. Zhang, S. M. Xu, y G. P. Guo. 2016. Power ultrasonic on mass transport of beef: Effects of ultrasound intensity and NaCl concentration. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 35:36–44.
- Kang, D. C., X. Q. Gao, Q. F. Ge, G. H. Zhou, y W. G. Zhang. 2017. Effects of ultrasound on the beef structure and water distribution during curing through protein degradation and modification. *Ultrason. Sonochem.* 38:317–325.
- Kassem, A., J. Meade, K. McGill, C. Walsh, J. Gibbons, J. Lyng, y P. Whyte. 2018. An investigation of high intensity ultrasonication and chemical immersion treatments on *Campylobacter jejuni* and spoilage bacteria in chicken. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 45:298–305.
- Khairi, M. T. M., S. Ibrahim, M. A. M. Yunus, y M. Faramarzi. 2015. Contact and Non-contact of ultrasonic measurement in food industry: A review. *Meas. Sci. Technol.* 27:12001.
- Kim, H. W., Y. S. Choi, J. H. Choi, H. Y. Kim, M. A. Lee, K. E. Hwang, D. H. Song, Y. Bin Lim, y C. J. Kim. 2013. Tenderization effect of soy sauce on beef M. biceps femoris. *Food Chem.* 139:597–603.
- Kim, K. B., S. Lee, M. S. Kim, y B. K. Cho. 2009. Determination of apple firmness by nondestructive ultrasonic measurement. *Postharvest Biol. Technol.* 52:44–48.
- Kinsler, L., A. Frey, A. Coppens, y J. Sanders. 2000. *Fundamentals of Acoustics*, Fourth Edi. John Wiley & Sons, Inc, USA, 1–548.
- 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.

- Lanari, M. C., y R. G. Cassens. 1991. Mitochondrial Activity and Beef Muscle Color Stability. *J. Food Sci.* 56:1476–1479.
- Lawrie, R. A., y D. Ledward. 2006. *Lawrie's Meat Science*, 7th ed. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, Cornwall, U.K., 1–442.
- Lazar, C., M. A. Gras, R. Pelmus, E. Ghita, y M. C. Rotar. 2017. Improvement of Meat Quality Evaluation by Ultrasound in Carpatina Goat Breed. *Scientific Papers: Animal Science & Biotechnologies* 50:249–254.
- Leemans, V., y M. F. Destain. 2009. Ultrasonic internal defect detection in cheese. *J. Food Eng.* 90:333–340.
- Li, J., Y. Suo, X. Liao, J. Ahn, D. Liu, S. Chen, X. Ye, y T. Ding. 2017. Analysis of *Staphylococcus aureus* cell viability, sublethal injury and death induced by synergistic combination of ultrasound and mild heat. *Ultrason. Sonochem.* 39:101–110.
- Li, X., Y. Wang, Y. Y. Sun, D. D. Pan, y J. X. Cao. 2018. The effect of ultrasound treatments on the tenderizing pathway of goose meat during conditioning. *Poult. Sci.* 97:2957–2965.
- Llull, P., S. Simal, J. Benedito, y C. Rosselló. 2002a. Evaluation of textural properties of a meat-based product (sobrassada) using ultrasonic techniques. *J. Food Eng.* 53:279–285.
- Llull, P., S. Simal, A. Femenia, J. Benedito, y C. Rosselló. 2002b. The use of ultrasound velocity measurement to evaluate the textural properties of sobrassada from Mallorca. *J. Food Eng.* 52:323–330.
- Luque de Castro, M. D., y F. Priego-Capote. 2007. Ultrasound-assisted crystallization (sonocrystallization). *Ultrason. Sonochem.* 14:717–724.
- Lyng, J. G., P. Allen, y B. M. McKenna. 1997. The influence of high intensity ultrasound baths on aspects of beef tenderness. *J. Muscle Foods* 8:237–249.
- Lyng, J. G., P. Allen, y B. M. McKenna. 1998. 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.
- Maheswarappa, N. B., K. Mohan, y D. S. Jagadeesh. 2016. *Meat Products Packaging*. Elsevier, India.
- Mason, T. J., L. Paniwnyk, y J. P. Lorimer. 1996. The uses of ultrasound in food technology. *Ultrason. Sonochem.*
- Mason, T. J., L. Paniwnyk, F. Chemat, y M. Abert Vian. 2010. Capítulo 10. Ultrasonic Food Processing. En *Alternatives to Conventional Food Processing*. 387–414.
- McCabe, W. L., J. C. Smith, y P. Harriot. 1991. *Operaciones Unitarias En Ingeniería Química*, 4 Ed. Mc Graw Hill, Madrid, España.

- McClements, D. J., y G. Sundaram. 1997. Ultrasonic Characterization of Foods and Drinks : Principles , Methods , and Applications. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 37:41.
- Meftah, H., y E. Mohd Azimin. 2012. Detection of foreign bodies in canned foods using ultrasonic testing. Int. Food Res. J. 19:543–546.
- Meregalli, M. M., B. M. S. Puton, F. D. M. Camera, A. U. Amaral, J. Zeni, R. L. Cansian, M. L. Mignoni, y G. T. Backes. 2020. Conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of bioactive compounds from red araçá peel (*Psidium cattleianum* Sabine). Arabian J. Chem. 5800–5809.
- Miano, A. C., A. Ibarz, y P. E. D. Augusto. 2016. Mechanisms for improving mass transfer in food with ultrasound technology: Describing the phenomena in two model cases. Ultrason. Sonochem. 29:413–419.
- Morild, R. K., P. Christiansen, A. H. Sørensen, U. Nonboe, y S. Aabo. 2011. Inactivation of pathogens on pork by steam-ultrasound treatment. J. Food Prot. 74:769–775.
- Morrison, D. S., y U. R. Abeyratne. 2014. Ultrasonic technique for non-destructive quality evaluation of oranges. J. Food Eng. 141:107–112.
- Musavian, H. S., N. H. Krebs, 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.
- Nair, M. N., S. P. Suman, M. K. Chatli, S. Li, P. Joseph, C. M. Beach, y G. Rentfrow. 2016. Proteome basis for intramuscular variation in color stability of beef semimembranosus. Meat Sci. 113:9–16.
- Niñoles, L., A. Mulet, S. Ventanas, y J. Benedito. 2010. Ultrasonic assessment of the melting behaviour in fat from Iberian dry-cured hams. Meat Sci.
- Noshad, M., M. Mohebbi, F. Shahidi, y S. A. Mortazavi. 2012. Kinetic modeling of rehydration in air-dried quinces pretreated with osmotic dehydration and ultrasonic. J. Food Process. Preserv. 36:383–392.
- Nowak, K. W., y M. Markowski. 2013. A comparison of methods for the determination of sound velocity in biological materials: A case study. Ultrasonics 53:923–927.
- Nowak, K. W., M. Markowski, y T. Daszkiewicz. 2016. A modified ultrasonic method for determining the chemical composition of meat products. J. Food Eng. 180:10–15.
- Obuz, E., L. Akkaya, V. Gök, y M. E. Dikeman. 2014. Effects of blade tenderization, aging method and aging time on meat quality characteristics of Longissimus lumborum steaks from cull Holstein cows. Meat Sci. 96:1227–32.

- Ojha, K. S., R. Aznar, C. O'Donnell, y B. K. Tiwari. 2020. Ultrasound technology for the extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources. *Trends Analyt. Chem.* 122.
- Olivera, D. F., R. Bambicha, G. Laporte, F. C. Cárdenas, y N. Mestorino. 2013. Kinetics of colour and texture changes of beef during storage. *J. Food Sci. Technol.* 50:821–825.
- Owusu-Apenten, R. K. 2004. Capítulo 10. Testing Protein Functionality. En *Proteins in Food Processing*. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England. 217–244.
- Ozuna, C., A. Puig, J. V. García-Pérez, A. Mulet, y J. A. Cárcel. 2013. Influence of high intensity ultrasound application on mass transport, microstructure and textural properties of pork meat (*Longissimus dorsi*) brined at different NaCl concentrations. *J. Food Eng.* 119:84–93.
- Panadare, D. C., A. Gondaliya, y V. K. Rathod. 2019. Comparative study of ultrasonic pretreatment and ultrasound assisted three phase partitioning for extraction of custard apple seed oil. *Ultrason. Sonochem.* 61:104821.
- Pardo-Rueda, A. 2012. Cuantificación y caracterización de azúcares provenientes de *Dasyliroium leiophyllum* empleando diversas tecnologías de extracción. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Peña-Gonzalez, E., A. D. Alarcon-Rojo, I. Garcia-Galicia, L. Carrillo-Lopez, y M. Huerta-Jimenez. 2019. Ultrasound as a potential process to tenderize beef: Sensory and technological parameters. *Ultrason. Sonochem.* 53:134–141.
- Peña-González, E. M., A. D. Alarcón-Rojo, A. Rentería, I. García, E. Santellano, A. Quintero, y L. Luna. 2017. Quality and sensory profile of ultrasound-treated beef. *Ital. J. Food Sci.* 29:463–475.
- Pinton, M. B., L. P. Correa, M. M. X. Facchi, R. T. Heck, Y. S. V. Leães, A. J. Cichoski, J. M. Lorenzo, M. dos Santos, M. A. R. Pollonio, y P. C. B. Campagnol. 2019. Ultrasound: A new approach to reduce phosphate content of meat emulsions. *Meat Sci.* 152:88–95.
- Pohlman, F. W., M. E. Dikeman, y J. F. Zayas. 1997a. The effect of low-intensity ultrasound treatment on shear properties, color stability and shelf-life of vacuum-packaged beef semitendinosus and biceps femoris muscles. *Meat Sci.* 45:329–337.
- Pohlman, F. W., M. E. Dikeman, y D. H. Kropf. 1997b. Effects of High Intensity Ultrasound Treatment , Storage Time and Cooking Method on Shear , Sensory , Instrumental Color and Cooking Properties of Packaged and Unpackaged Beef pectoral & Muscle *. *Meat Sci.* 46:89–100.
- Pohlman, F. W., M. E. Dikeman, J. F. Zayas, y J. A. Unruh. 1997c. Effects of Ultrasound and Convection Cooking to Different End Point Temperatures on Cooking Characteristics, Shear Force and Sensory Properties, Composition,

- and Microscopic Morphology of Beef Longissimus and Pectoralis Muscles. *J. Anim. Sci.* 75:386–401.
- Povey, M. J. W., y D. J. McClements. 1988. Ultrasonics in food engineering. Part I: Introduction and experimental methods. *J. Food Eng.* 8:217–245.
- De Prados, M., J. V García-Pérez, y J. Benedito. 2015a. Non-destructive salt content prediction in brined pork meat using ultrasound technology. *J. Food Eng.* 154:39–48.
- De Prados, M., J. V Garcia-Perez, y J. Benedito. 2016. Ultrasonic characterization and online monitoring of pork meat dry salting process. *Food Control* 60:646–655.
- De Prados, M., E. Fulladosa, P. Gou, I. Muñoz, J. V Garcia-Perez, y J. Benedito. 2015b. Non-destructive determination of fat content in green hams using ultrasound and X-rays. *Meat Sci.* 104:37–43.
- Reynolds, J. B., D. B. Anderson, G. R. Schmidt, D. M. Theno, y D. G. Siegel. 1978. Effects of Ultrasonic Treatment on Binding Strength in Cured Ham Rolls. *J. Food Sci.* 43:866–869.
- Roberts, R. T. T. 1991. Sound for processing food. *Nutr. Food Sci.* 91:17–18.
- Rodrigues, S., M. C. F. Gomes, M. I. Gallão, y F. A. N. Fernandes. 2009. Effect of ultrasound-assisted osmotic dehydration on cell structure of sapotas. *J. Sci. Food Agric.* 89:665–670.
- Rodrigues, S., F. A. N. Fernandes, E. S. de Brito, A. D. Sousa, y N. Narain. 2015. Ultrasound extraction of phenolics and anthocyanins from jabuticaba peel. *Ind. Crops Prod.* 69:400–407.
- Rossing, T. D. (Ed.) 2014. *Springer Handbook of Acoustics*, 2a ed. Springer Standford, CA,USA.
- SAGARPA. 2017. Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera. En <http://www.siap.gob.mx/>. Consultado Agosto 2019.
- Sánchez-García, Y. I., K. S. García-Vega, M. Y. Leal-Ramos, I. Salmeron, y N. Gutiérrez-Méndez. 2018. Ultrasound-assisted crystallization of lactose in the presence of whey proteins and k-carrageenan. *Ultrason. Sonochem.* 42:714–722.
- Sánchez-García, Y. I., N. Gutiérrez-Méndez, R. E. Orozco-Mena, V. H. Ramos-Sánchez, y M. Y. Leal-Ramos. 2019. Individual and combined effect of pH and whey proteins on lactose crystallization. *Food Res. Int.* 116:455–461.
- Santacatalina, J. V, E. Corona, y J. Benedito. 2011. Ultrasonic monitoring of lard crystallization during storage. *Food Res. Int.* 44:146–155.
- Sekhar, P. K., y V. Uwizye. 2012. Review of sensor and actuator mechanisms for bioMEMS. *MEMS for Biomedical Applications* 46–77.

- Seto, W. W. 1971. Schaum' s Outline of Theory and Problems of Acoustics. Mc Graw Hill, USA, 202
- 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.
- Simal, S., J. Benedito, G. Clemente, A. Femenia, y C. Rosselló. 2003. Ultrasonic determination of the composition of a meat-based product. *J. Food Eng.* 58:253–257.
- 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. C. E. Novakofski, F. K. Mckeith, y W. D. O'Brien. 1991. Tenderization of semitendinosus muscle using high intensity ultrasound. *Ultrasonics* 1371–1374.
- Souza da Silva, E., S. C. Rupert Brandão, A. Lopes da Silva, J. H. Fernandes da Silva, A. C. Duarte Coêlho, y P. M. Azoubel. 2019. Ultrasound-assisted vacuum drying of nectarine. *J. Food Eng.* 246:119–124.
- Spallanzani, L. 1794. Lettere Sopra Il Sospetto Di Un Nuovo Senso Nei Pipistrelli Dell'abate.
- Srivastava, S. 2014. Non-Contact Ultrasonic Based Stiffness Evaluation System for Tomatoes during Shelf-Life Storage. *J. Nutr. Food Sci.*
- Stadnik, J., y Z. J. Dolatowski. 2011. Influence of sonication on Warner-Bratzler shear force, colour and myoglobin of beef (m. semimembranosus). *Eur. Food Res. Technol.* 233:553–559.
- Stasiak, D., Z. J. Dolatowski, y M. Kordowska-Wiater. 2007. Total number of bacteria and Salmonella on the skin of broiler chicken carcass after sonication. *Med. Weter.* 63:1230–1233.
- Tapp, W. N., J. W. S. Yancey, y J. K. Apple. 2011. How is the instrumental color of meat measured?. *Meat Sci.* 89:1–5.
- Tremarin, A., T. R. S. Brandão, y C. L. M. Silva. 2017. Application of ultraviolet radiation and ultrasound treatments for Alicyclobacillus acidoterrestris spores inactivation in apple juice. *LWT - Food Sci. Technol.* 78:138–142.
- Treybal, R. E. 1980. Operaciones de Transferencia de Masa, 2 Ed. Mc Graw Hill.
- Turantaş, F., G. B. Kılıç, y B. Kılıç. 2015. Ultrasound in the meat industry: General applications and decontamination efficiency. *Int. J. Food Microbiol.* 198:59–69.
- Vasighi-Shojae, H., M. Gholami-Parashkouhi, D. Mohammadzamani, y A. Soheili. 2018. Ultrasonic based determination of apple quality as a nondestructive technology. *Sens. Biosensing Res.* 21:22–26.

- Vega-Gálvez, A., K. Di Scala, K. Rodríguez, R. Lemus-Mondaca, M. Miranda, J. López, y M. Perez-Won. 2009. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annum*, L. var. Hungarian). *Food Chem.* 117:647–653.
- Wan, Y., H. Wang, W. Wang, L. Zan, y J. Zhu. 2018. Effect of Ultrasound and Calcium Chloride on the Ultrastructure and the Warner-Bratzler Shear Force Value of Beef Shank Muscle Fibers. *Food Biophys.* 13:396–403.
- Wang, A., D. Kang, W. Zhang, C. Zhang, Y. Zou, y G. Zhou. 2018. Changes in calpain activity, protein degradation and microstructure of beef *M. semitendinosus* by the application of ultrasound. *Food Chem.* 245:724–730.
- Wang, Y., M. Liu, X. Qu, S. Wang, Z. Ma, R. Zhang, H. Li, X. Liu, y J. Yu. 2019. Changes in the fat globule membrane protein components of pasteurized milk caused by different homogenization conditions determined using a label-free proteomic approach. *Lwt Food Sci. Technol.* 115:108430.
- Warner, R. D., A. E. D. Bekhit, R. Vaskoska, A. Sikes, M. Ha, C. K. McDonnell, F. R. Dunshea, y J. Claus. 2017. Systematic review of emerging and innovative technologies for meat tenderisation. *Meat Sci.* 132:72–89.
- Watson, N. J. 2015. Ultrasound tomography. *Ind. Tomogr.* 235–261.
- van Wijngaarden, L. 2016. Mechanics of collapsing cavitation bubbles. *Ultrason. Sonochem.* 29:524–7.
- Wu, W., X. G. Gao, Y. Dai, Y. Fu, X. M. Li, y R. T. Dai. 2015a. Post-mortem changes in sarcoplasmic proteome and its relationship to meat color traits in *M. semitendinosus* of Chinese Luxi yellow cattle. *Food Res. Int.* 72:98–105.
- Wu, W., Q. Q. Yu, Y. Fu, X. J. Tian, F. Jia, X. M. Li, y R. T. Dai. 2015b. Towards muscle-specific meat color stability of Chinese Luxi yellow cattle: A proteomic insight into post-mortem storage. *J. Proteomics.*
- Zhang, Y., y N. Abatzoglou. 2019. Review: fundamentals, applications and potentials of ultrasound-assisted drying. *Chem. Eng. Res. Des.*
- Zhao, B., Y. Jiang, O. A. Basir, y G. S. Mittal. 2004. Foreign body detection in foods using the ultrasound pulse/echo method. *J. Food Qual.* 27:274–288.
- Zhao, G. Y., M. Y. Zhou, H. L. Zhao, X. L. Chen, B. B. Xie, X. Y. Zhang, H. L. He, B. C. Zhou, y Y. Z. Zhang. 2012. Tenderization effect of cold-adapted collagenolytic protease MCP-01 on beef meat at low temperature and its mechanism. *Food Chem.* 134:1738–44.
- Zou, Y., W. Zhang, D. Kang, y G. Zhou. 2018a. Improvement of tenderness and water holding capacity of spiced beef by the application of ultrasound during cooking. *International J. Food Sci. Technol.* 53:828–836.
- Zou, Y., K. Zhang, X. X. Zhang, P. Li, M. Zhang, F. Liu, C. Sun, W. Xu, y D. Wang.

2018b. Optimization of goose breast meat tenderness by rapid ultrasound treatment using response surface methodology and artificial neural network. *Anim. Sci. J.* 89:1339–1347.

Zupanc, M., Ž. Pandur, T. Stepišnik Perdih, D. Stopar, M. Petkovšek, y M. Dular. 2019. Effects of cavitation on different microorganisms: The current understanding of the mechanisms taking place behind the phenomenon. A review and proposals for further research. *Ultrason. Sonochem.* 57:147–165.

CAPÍTULO I. ESTUDIOS EXPLORATORIOS

RESUMEN

ESTUDIOS EXPLORATORIOS

POR:

M.C. SERGIO DÍAZ ALMANZA

Doctorado in Philosophia en Producción Animal

Universidad Autónoma de Chihuahua

Facultad de Zootecnia y Ecología

Secretaría de Investigación y Posgrado

Presidente: Ph. D. Iván Adrián García Galicia

El UAI ha sido investigado con el objetivo de evaluar el efecto en el ablandamiento de carne, con resultados variados. Estas variaciones pueden ser atribuidas a las condiciones de procesamiento, ya sea intensidades no lo suficientemente altas, las condiciones de empaque o a un daño superficial en la muestra. El objetivo de los estudios exploratorios fue evaluar el efecto de las intensidades de ultrasonido sobre la terneza de la carne de bovino (primer estudio), determinar el efecto de los empaques de polimeros como protección a las burbujas de cavitación acústica por UAI (segundo estudio) y determinar el daño por cavitación a distintas distancias dentro de carne de bovino sometido a tratamiento de UAI mediante láminas de aluminio (tercer estudio). En el primer estudio no se observó mejora en la terneza de la carne al ultrasonicar. Sin embargo, el baño ultrasónico que arrojó los mejores resultados de terneza fue el ultrasonido de mayor intensidad (90 W/cm^2), pero afectó negativamente las características de color. Los empaques de polimeros evitaron el daño por

cavitación acústica en láminas de papel aluminio empacadas al vacío. Mientras que al incluir agua en el empaquetado al vacío se dañó el aluminio, el cual se incrementó al aumentar la intensidad del ultrasonido. Por último, en el tercer estudio, se observó que el efecto mecánico de la cavitación es inversamente proporcional a la distancia.

ABSTRACT

EXPLORATORY STUDIES

BY:

SERGIO DÍAZ ALMANZA

High intensity ultrasound has been investigated with the objective of evaluating the effect on meat tenderness. However, there are very varied results on the effect of UIA in meat. These variations can be attributed to the processing conditions, whether intensities not high enough, packaging conditions or superficially sample damage. The objective of the exploratory studies is to determine the effect of ultrasound intensities on beef tenderness (first study), evaluate the effect of polymer packaging as acoustic cavitation protection (second study) and determine the damage of cavitation bubbles in beef undergoing UAI treatment (third study). In the first study, no improvement on beef tenderness was observed when UIA was applied. However, the ultrasonic bath with the highest intensity yielded the best results on beef tenderness, although it also presented the least desirable color properties. Polymer packaging prevented aluminum foil damage when was dry vacuum packaged. Damage on aluminum foil was observed when water was added inside the polymer, which increased with increasing ultrasound intensity. Finally, in the third study, the mechanical effect of cavitation was inversely proportional to distance.

INTRODUCCIÓN

La carne es un alimento muy completo por su aporte nutricional, además de sus características sensoriales que resulta en una alta aceptabilidad por el consumidor (Cardenas y Olivera, 2016; Hygreeva y Pandey, 2016). La textura de la carne es una de las características de calidad más importantes considerada por el consumidor (Lyng *et al.*, 1997; Zhao *et al.*, 2012), por lo que afecta en gran medida su aceptabilidad, precio de compra, así como la decisión de volver a comprar el producto (Llull *et al.*, 2002^a; Coll Cardenas y Olivera, 2016).

Los métodos tradicionales de ablandamiento de carne ya sean químicos, físicos o enzimáticos pueden afectar el sabor, la apariencia o son tardados (Jayasooriya *et al.*, 2007). Por lo que es importante investigar procesos que generen productos con características deseables de textura sin afectar otras características de calidad. El ultrasonido de alta intensidad es una herramienta alternativa que ha sido utilizada con el propósito de ablandar la carne (Peña-Gonzalez *et al.*, 2019). Consiste en ondas acústicas a una frecuencia mayor a la perceptible por el oído humano, correspondiente a frecuencias mayores a 20 kHz y con una intensidad mayor a $10 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ (Ashokkumar y Mason, 2007).

Al aplicar el UAI en un medio acuoso, se generan burbujas de vacío, las cuales colapsan en implosión, liberando energía al medio y causando daño estructural al material cercano a la implosión (Ashokkumar y Mason, 2007), mediante las ondas de choque generadas al momento de la implosión y mediante corrientes de chorro que impactan sobre la superficie del material (van Wijngaarden, 2016).

Existen reportes de mejora en textura de carne mediante el uso de UAI (Barekat y Soltanizadeh, 2017a; Kang *et al.*, 2017), en otras ocasiones no se reporta un efecto significativo (Wan *et al.*, 2018) o incluso negativo (Gómez-Salazar *et al.*, 2018), atribuido a tiempos o intensidades bajos, por lo que no se alcanza a observar el efecto deseado.

El efecto de la aplicación de ultrasonido sobre la textura de los productos cárnicos se evalúa mediante distintas metodologías instrumentales o sensoriales (AMSA, 2016). Se han realizado investigaciones para evaluar el mecanismo de penetración de burbujas de cavitación en micro túneles de materiales rígidos en donde se observó la creación de las burbujas de cavitación en la boca del túnel con una posterior inserción de burbujas por la cavidad (Vaidya *et al.*, 2016). Sin embargo, el efecto en la estructura de los alimentos es comúnmente evaluado por microscopía, en donde se observa la formación de micro túneles en tejido vegetal (Fernandes *et al.*, 2008, 2009) o daño y cambios conformacionales de la estructura de cárnicos (Ozuna *et al.*, 2013; Gao *et al.*, 2016). Sin embargo, el papel aluminio es un material que permite visualizar claramente el daño por cavitación y ha sido utilizado para la estimación de la intensidad de la cavitación generada por ultrasonido (Chivate y Pandit, 1995).

El objetivo de los estudios exploratorios fue evaluar el empaque de polímeros como protección para la cavitación acústica, determinar la distancia del daño de la cavitación acústica dentro de carne de bovino al aplicar ultrasonido de alta intensidad en un medio acuoso y evaluar el efecto de las intensidades de ultrasonido sobre la textura de la carne de bovino. A partir de los resultados obtenidos de estos estudios exploratorios se definieron las condiciones

experimentales para los siguientes capítulos. Adicionalmente, ayuda a comprender la existencia de resultados tan variados al aplicar ultrasonido de alta intensidad a carne de bovino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento I. Intensidades de Ultrasonido en Carne de Bovino

Se utilizaron 8 lomos (*Longissimus dorsi*) de bovino como bloques, los cuales fueron cortados en trozos de 25 mm de grosor. Las muestras se asignaron a distintos baños ultrasónicos con intensidades de 6, 7, 16, 28 y 90 W/cm². Se agregaron 500 mL de agua destilada al baño ultrasónico. Se ajustó la temperatura inicial a 4°C y se colocó un refrigerante de inmersión (Julabo, FT 200, Seelbach, Alemania) para reducir el aumento de temperatura. El tiempo total de ultrasonificación fue de 60 min, 30 min por lado para asegurar una exposición equitativa a las ondas de ultrasonido.

Textura

El análisis de textura se realizó instrumentalmente en un Texturómetro TA XT Plus con una celda de carga de 50 kg, con la finalidad de determinar la dureza de la carne, mediante la metodología de Warner Bratzler como se describe a continuación (AMSA, 2016).

Las muestras de carne fueron cocinadas en plancha de cocción a una temperatura de 200°C aproximadamente por 8 min hasta que el centro térmico alcanzó una temperatura de 71 °C, las piezas de carne fueron cocinadas simultáneamente por ambas caras de la pieza de carne para asegurar una cocción homogénea. Después las piezas de carne fueron enfriadas en cama de hielo. Se tomaron muestras cilíndricas con un diámetro de 10 mm por 25 mm de largo de manera paralela a las fibras con la ayuda de un sacabocados y cada

muestra fue colocada en el texturómetro. Se utilizó una velocidad constante de 2 mm/seg (Hansen *et al.*, 2004). Las muestras fueron cortadas de forma perpendicular a las fibras musculares utilizando la navaja Warner Bratzler. Se registró la fuerza máxima (N) y la energía de corte (J). Se realizaron 9 mediciones por tratamiento y se reportó un valor promedio (Hansen *et al.*, 2004).

Color

El color superficial de las muestras fue medido realizando tres lecturas por muestra de forma triangular con un colorímetro (Konica Minolta CR-410, Japón), el cual fue previamente calibrado con una placa blanca con valores de referencia de $Y = 94.9$, $x = 0.3124$ y $y = 0.3185$. La lectura proporciona los tres valores de las coordenadas L^* (Luminosidad), a^* (rojo-verde) y b^* (amarillo-azul). Adicionalmente los datos obtenidos fueron convertidos como $^{\circ}\text{Hue}$ que corresponde a la tonalidad (Ecuación 13) y Croma que corresponde a la saturación (Ecuación 14) (AMSA, 2012).

$$^{\circ}\text{Hue} = \text{artg} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (13)$$

$$\text{Croma} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (14)$$

pH

El pH fue determinado instrumentalmente con un potenciómetro (Hanna Instruments HI99163, Romania) a una profundidad de $\cong 15$ mm dentro de la carne.

Experimento II. Empaque de Polimeros Como Protección a la Cavitación

Acústica

Se cortaron 6 láminas de papel aluminio (5 x 5 cm) y cada lámina se colocó dentro de una bolsa para empaque al vacío. La mitad de las láminas se sellaron al vacío en seco, mientras que a la otra mitad se le agregaron 50 mL de agua destilada antes del sellado. Después de tener todas las bolsas selladas se sumergieron en agua en baños ultrasónicos con intensidades 6, 16 y 90 W/cm² por 20 min.

Experimento III. Daño de Cavitación Acústica a Distintas Distancias Dentro de Carne de Bovino

Materia Prima y Preparación de la Muestra. Se obtuvieron trozos de 25 mm de grosor de lomos de bovino (*Longissimus lumborum*) congelados a $\cong -18^{\circ}\text{C}$, los cuales se mantuvieron a esa temperatura hasta su análisis. Los pedazos se descongelaron a $\cong 4^{\circ}\text{C}$ y se cortaron muestras de $\cong 30 \times 30$ mm para caracterizar sus propiedades acústicas, mediante un equipo de ultrasonido de baja intensidad (Gampt, Alemania). Con la ayuda de un cuchillo filoso se hicieron cortes a las muestras de carne, a una profundidad de $\cong 3, 6, 9$ y 12 mm y por último se colocó una lámina de papel aluminio de 100 mm².

Procesamiento de la muestra por UAI. Las muestras de carne con papel aluminio fueron colocadas a lo largo del área del baño ultrasónico (Figura 5) con intensidad de 90 W/cm², sin empaque durante 10 min. Se colocó una reja

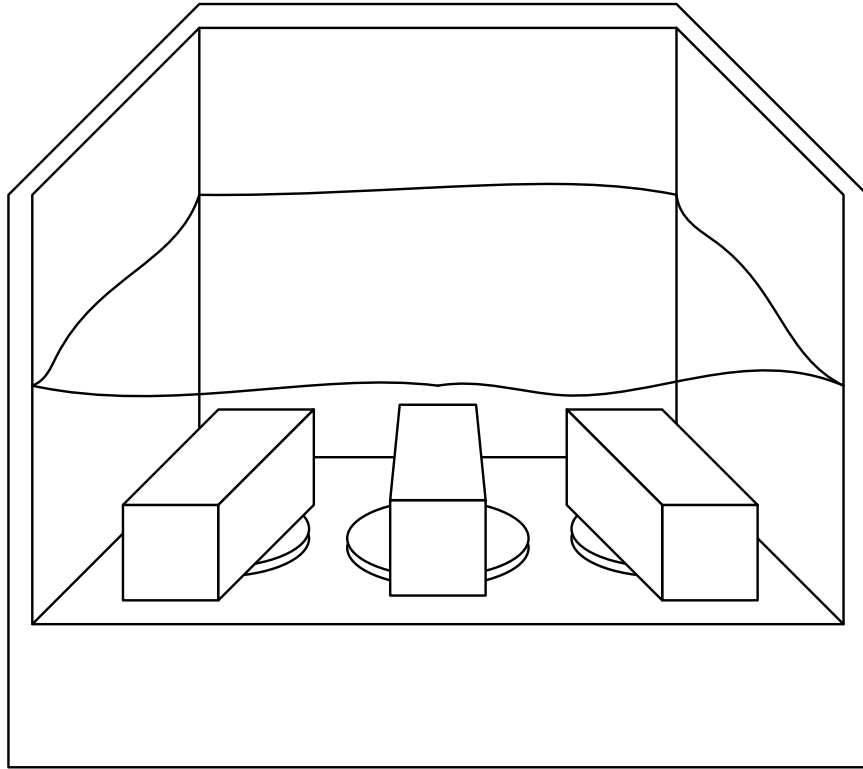


Figura 5. Distribución de las muestras dentro del baño ultrasónico.

metálica en la parte superior del baño para evitar el movimiento de las piezas de carne. Se ajustó la temperatura inicial a 4°C y se colocó un refrigerante de inmersión (Julabo, FT 200, Seelbach, Alemania) para reducir el aumento de temperatura. Las tiras de papel aluminio fueron evaluadas considerando el área de daño.

Procesamiento de Imagen. Las láminas de aluminio se colocaron en un microscopio con amplificación de 4X. Se capturó la imagen de la lámina de aluminio con una resolución de 12 Mpixeles para evaluar el daño observado. Para el análisis de resultados se utilizó el programa Matlab para el procesamiento de imagen, en donde se realizó un conteo del área de daño por cavitación. La imagen se transformó a escala de grises ($I > 200$), posteriormente se utilizó la aplicación de segmentación de imagen (límite de 200, detección de contornos con 100 iteraciones) y por último se utilizó la aplicación de análisis de región de imagen.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

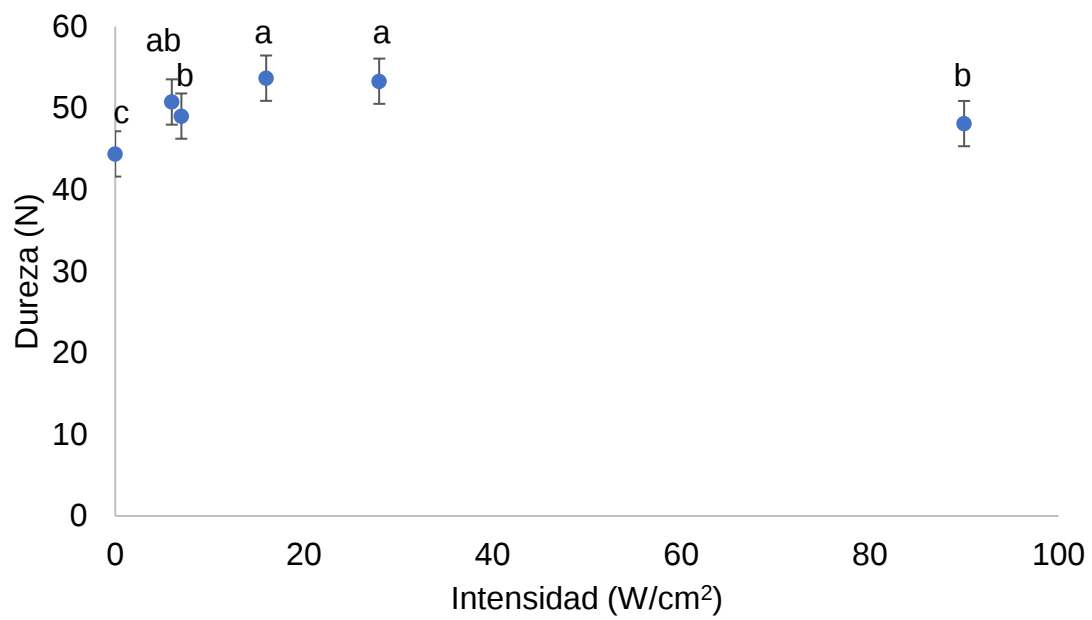
Experimento I

La intensidad de ultrasonido tuvo un efecto significativo ($P<0.05$) sobre la textura. En la Gráfica 1 se muestra el efecto de las intensidades de ultrasonido sobre la textura de las muestras de carne, en donde no se observó disminución de textura con respecto al control. Sin embargo, la ultrasonificación de mayor intensidad arrojó los mejores resultados de textura.

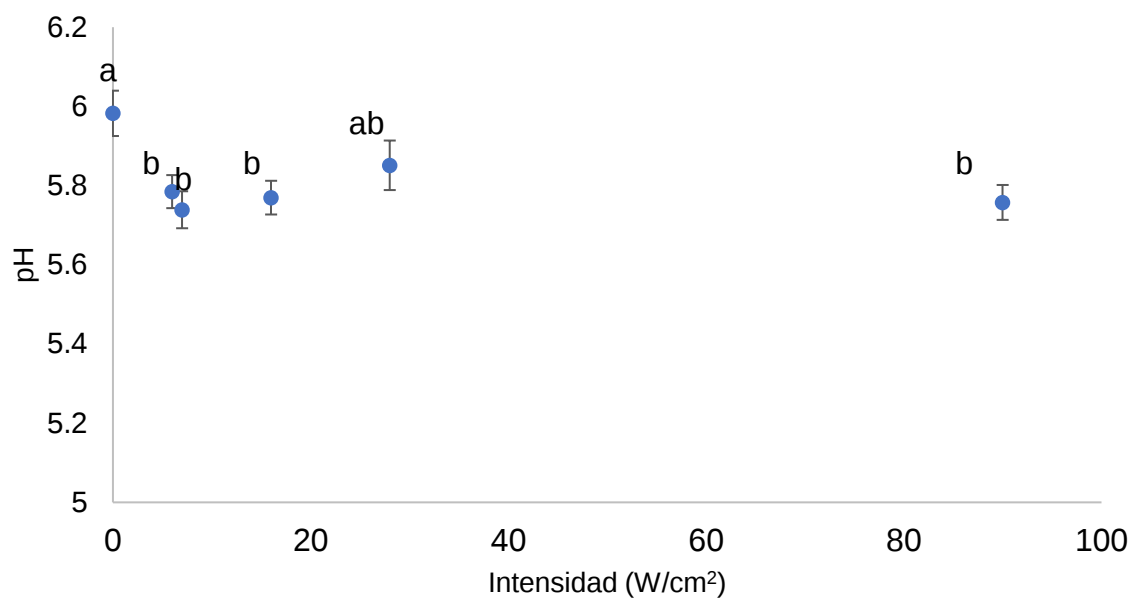
El pH fue afectado significativamente ($P<0.05$) por la aplicación de ultrasonido. En la Gráfica 2 se observa una disminución del pH al aplicar ultrasonido sin diferencia significativa entre intensidades. Sin embargo, el pH permanece dentro de los límites normales de la carne.

El ultrasonido de alta intensidad afectó significativamente las propiedades de color ($P<0.05$). Los resultados se muestran en el Cuadro 4 en donde se encontró una tendencia perjudicial en las propiedades de color al incrementar las intensidades de alta intensidad. El valor de L^* , correspondiente a la luminosidad se incrementó al someter las muestras cárnicas a ultrasonido de alta intensidad. Valores elevados de L^* son deseables en la industria cárnica, sin embargo, este aumento en la luminosidad puede ser por la liberación de agua superficial de la carne, por lo que puede no ser una ventaja.

Para el caso de la coordenada a correspondiente a la tendencia rojo-verde, se obtuvieron valores más elevados en las muestras sometidas a ultrasonido de alta intensidad, con una posterior tendencia de disminución a medida que se



Gráfica 1. Efecto de la intensidad ultrasónica sobre la dureza de la carne de bovino (*Longissimus dorsi*).



Gráfica 2. Efecto de la intensidad de ultrasonificación sobre el pH de la carne de bovino (*Longissimus dorsi*).

Cuadro 4. Propiedades de color de muestras cárnicas de bovino (*Longissimus dorsi*) sometido a distintas intensidades de ultrasonido

Intensidad (W/cm ²)	L	a	b	°Hue	Chroma
0	31.18±0.81 ^c	11.00±0.6 ^b	6.73±0.2 ^b	0.560±0.2 ^b	12.92±0.76 ^b
6	34.78±0.86 ^b	14.16±0.66 ^a	8.35±0.22 ^a	0.568±0.2 ^b	18.40±1.12 ^a
7	34.35±0.81 ^b	13.41±0.6 ^a	8.16±0.2 ^a	0.586±0.2 ^b	17.57±1.05 ^a
16	36.13±0.81 ^{ab}	13.15±0.6 ^a	8.52±0.2 ^a	0.617±0.2 ^b	18.30±0.96 ^a
28	37.48±0.82 ^a	11.98±0.61 ^a	8.46±0.21 ^a	0.704±0.3 ^a	16.69±0.86 ^a
90	34.78±0.81 ^b	12.31±0.6 ^{ab}	8.03±0.2 ^a	0.637±0.2 ^{ab}	16.04±0.77 ^{ab}

incrementó la intensidad ultrasónica. Son deseables colores más parecidos al rojo cereza correspondientes a valores más elevados de la coordenada a^* , por lo que el aumento en las intensidades reduce esta característica deseable de color. La coordenada b^* corresponde a la tendencia amarillo-azul. Se observó un aumento en el valor de la coordenada b^* al ultrasonicar las muestras de carne, sin presentar un efecto significativo ($P > 0.05$) de las intensidades de ultrasonido.

Este aumento es considerado como negativo ya que la muestra cambia a un color más café, pudiendo causar un rechazo por el consumidor. Las intensidades mayores causaron un incremento en la tonalidad ($^{\circ}\text{hue}$) cambiando hacia una tonalidad más naranja. Mientras que los valores de chroma indican que al ultrasonicar las muestras cárnicas se incrementó la saturación.

Experimento II

En términos de daño se observa (Figura 6) que cuando las láminas de aluminio fueron empacadas al vacío en seco no se vieron afectadas por la cavitación acústica. Mientras que, al ser empacadas con agua en su interior, las láminas de aluminio presentaron daño que incrementó al aumentar la intensidad.

El ultrasonido de alta intensidad ha sido investigado como herramienta alternativa para el ablandamiento de carne. Sin embargo, una práctica común en las investigaciones científicas es ultrasonicar la carne empacada al vacío (Got *et al.*, 1999; Chang *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2018). Al aplicar UAI en carne empacada al vacío, las bolsas plásticas pueden tener un efecto protector a la cavitación acústica, con una posible disminución de su efecto. Por lo que se debe tomar en consideración la utilización de empaques en trabajos posteriores.



Figura 6.- Efecto de la intensidad sobre láminas de papel aluminio, A) Empaque al vacío, B) Empaque al vacío húmedo (con agua destilada).

Experimento III

Las propiedades acústicas de la carne de bovino se muestran en el Cuadro 5, en donde se observa que las muestras empleadas para evaluar el daño a distintas distancias tienen propiedades acústicas similares, por lo que se espera que sus propiedades acústicas no afecten en el daño por cavitación acústica al someter las muestras a un mismo tratamiento.

Área de efecto ultrasónico. Al comparar (Cuadro 6) los daños en las láminas de aluminio de las muestras de carne colocadas en diferentes áreas del baño ultrasónico, se puede observar que las muestras de la parte central estaban más dañadas. El menor rastro de impacto de implosión de cavitación acústica fue en las muestras situadas en los extremos. Esto es debido a que la energía acústica tiene el valor mayor en la parte superior del emisor acústico, por lo que la formación de cavitación, de igual forma, será mayor en el lugar en donde está situado el transductor.

A partir de estos resultados se puede comprender el motivo de resultados tan distintos en terneza de muestras de carne con tratamiento ultrasónico. Al someter una pieza grande de carne a ultrasonido, el mayor efecto de cavitación es localizado en un área justo arriba del emisor acústico central, con un efecto menor a medida que se aleja de él.

La metodología instrumental de medición de textura necesita un mínimo de 6 a 10 mediciones mediante un texturómetro (AMSA, 2016), por lo que es probable que la mayoría de las muestras analizadas de la pieza de carne se encuentren en una ubicación distinta al emisor acústico central por lo que no haya

Cuadro 5. Propiedades acústicas de las muestras de carne de bovino utilizadas para la evaluación de distancias de 3, 6, 9 y 12 mm

Muestra	c (m/s)	att (dB)	att (dB/m)	Z (rayl)
3mm	1628.12 ± 8.7	6.64 ± 4.8	351.14 ± 249.4	1.62E+06± 5.4E+04
6mm	1643 ± 23.1	9.72 ± 5.4	440 ± 248.6	1.77E+06± 5.7E+04
9mm	1634.6 ± 23.1	9.31 ± 4.9	500.3 ± 268.8	1.75E+06± 5.6E+04
12mm	1605.7 ± 6	7.04 ± 2.6	305 ± 102	1.76E+06± 5.8E+04

c= velocidad de fase acústica
att (dB)= coeficiente de atenuación
att (dB/m)= coeficiente de atenuación aparente
Z= Impedancia acústica característica

Cuadro 6. Área de daño de cavitación acústica en láminas de aluminio a profundidades de 3, 6, 9 y 12 mm dentro de carne de bovino (*Longissimus dorsi*)

Muestra	Área (pixeles)
3mm_1	10239
3mm_2	14681
3mm_3	10758
6mm_1	7105
6mm_2	8766
6mm_3	4778
9mm_1	3041
9mm_2	5977
9mm_3	5483
12mm_1	2833
12mm_2	6278
12mm_3	1113

tenido gran daño por cavitación y resulte en mediciones sin diferencias significativas con respecto a carne sin someter a ultrasonido. Los equipos ultrasónicos que se cuentan a nivel laboratorio no fueron diseñados para el procesamiento de alimentos y el fabricante indica que fueron creados con el objetivo de limpieza de materiales (Elmasonic, Alemania). Lo más conveniente es el diseño de equipos de UAI con un enfoque específico para el ablandamiento de carne para una exposición más homogénea a las burbujas de cavitación acústica o colocar piezas de carne de un tamaño similar a los transductores de los baños ultrasónicos con los que se cuenta.

Daño a distintas distancias dentro de la carne. Las imágenes de las láminas de aluminio obtenidas de las muestras en el baño ultrasónico se muestran en la Figura 7. Mientras que las mismas imágenes sometidas a procesamiento de imágenes se muestran en la Figura 8. Se observó daño en las láminas de aluminio a todas las distancias evaluadas. El mayor daño fue encontrado a la distancia más cercana evaluada (3 mm), mientras que el daño de las láminas fue disminuyendo a medida que estaban situadas a una distancia mayor del fondo del baño ultrasónico, en donde se encuentra el emisor acústico.

El menor daño fue encontrado a la mayor distancia evaluada (12 mm) sin embargo, aun fue evidente el golpeteo de las burbujas de cavitación. Por lo que el grosor de la muestra puede reducir el efecto de la cavitación en la parte media (Jayasooriya *et al.*, 2004).

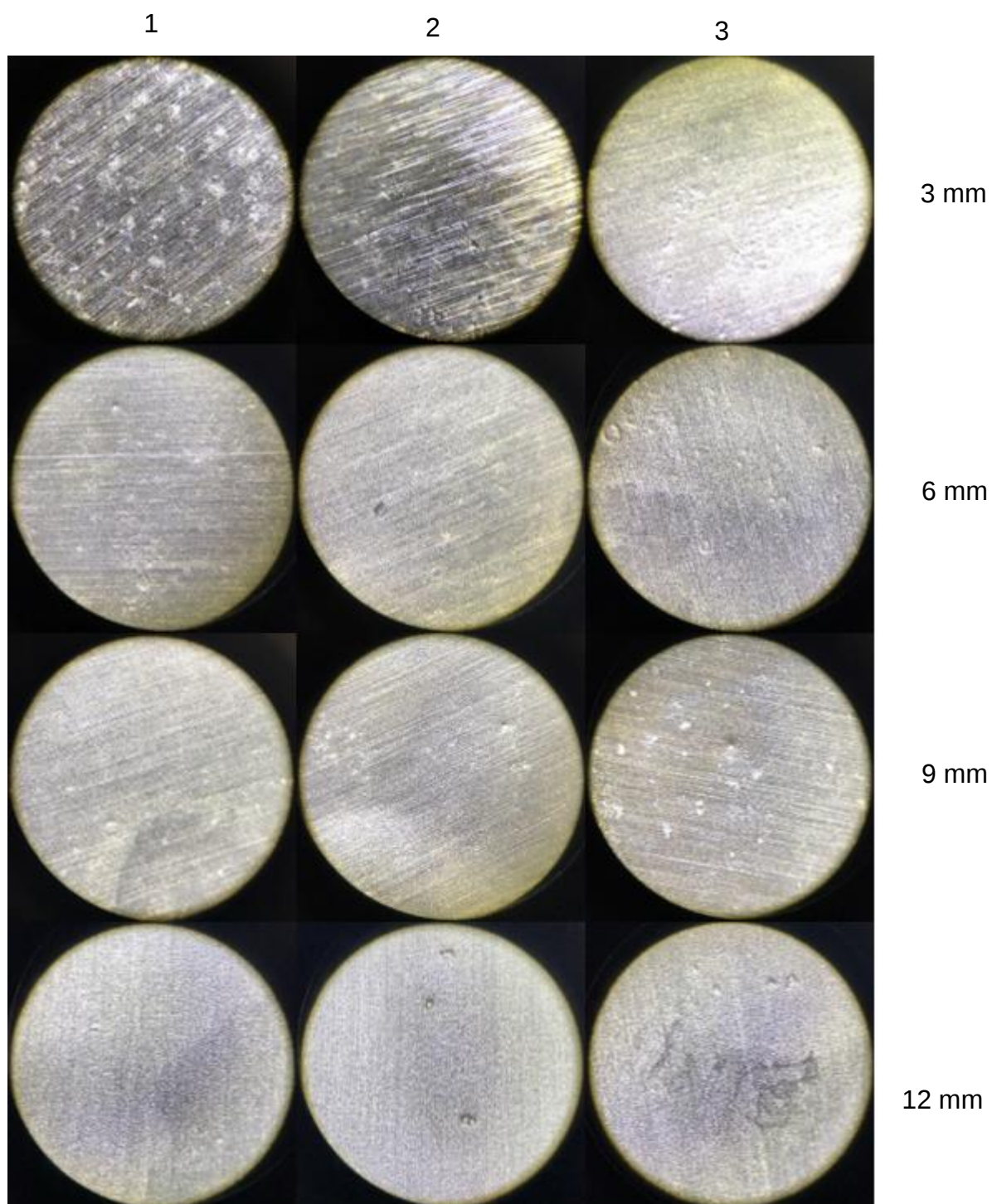


Figura 7. Daño de las burbujas de cavitación en láminas de aluminio a varias distancias dentro de carne de bovino (3, 6, 9 y 12 mm) y en tres posiciones dentro del baño ultrasónico (90 W/cm^2).

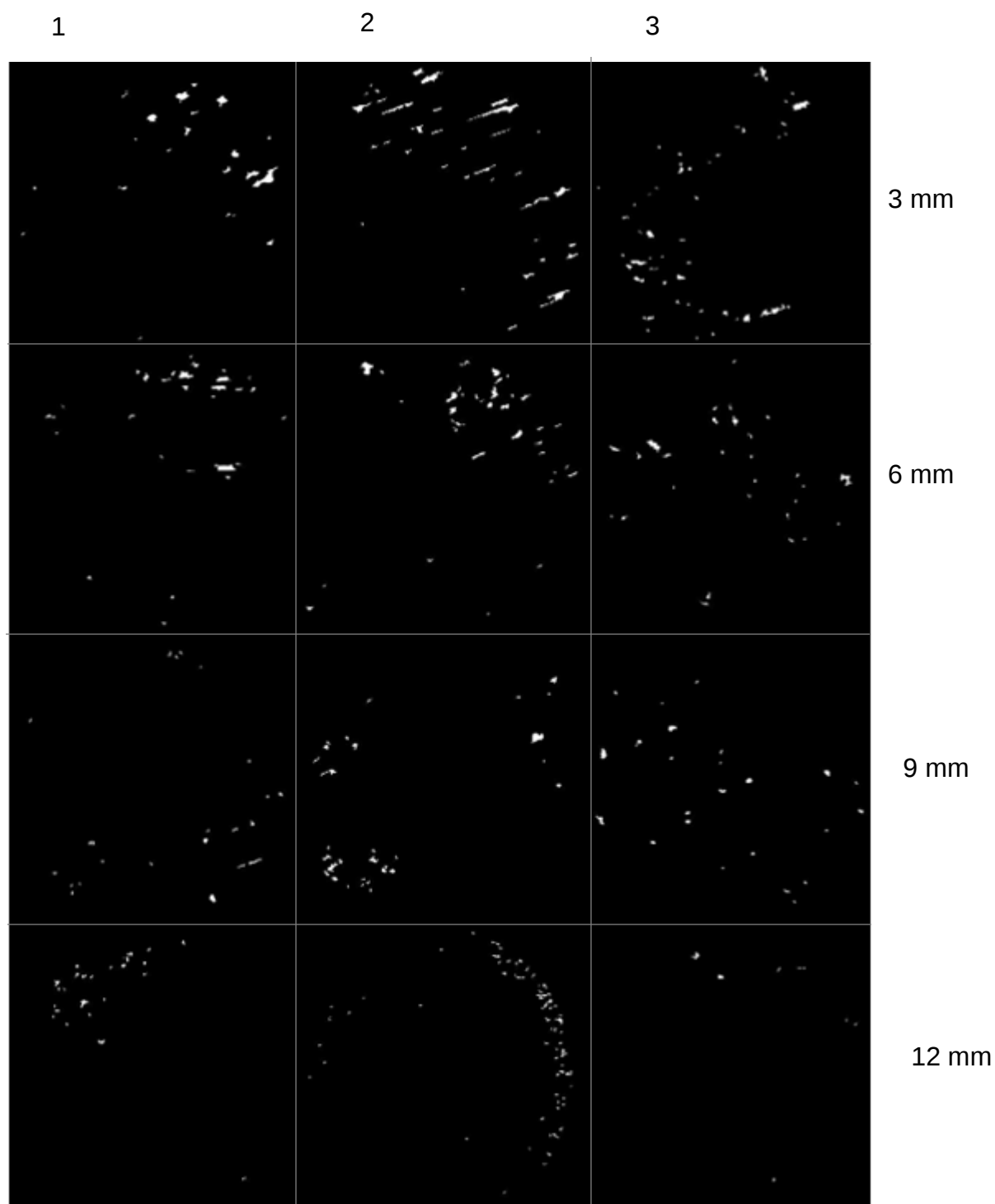


Figura 8. Imagen procesada del daño de las burbujas de cavitación (zonas blancas) a varias distancias dentro de carne de bovino (3, 6, 9 y 12 mm) y en tres posiciones dentro del baño ultrasónico (90 W/cm^2).

Se observó un efecto reducido a una distancia de 12 mm, correspondiente a aproximadamente la parte media de la chuleta de carne. La metodología más comúnmente utilizada para la medición de terneza de carne es la Warner-Bratzler. Esta metodología indica que se deben de tomar muestras cilíndricas de forma paralela a las fibras de la carne, se debe de colocar en el texturómetro con la navaja Warner-Bratzler, la cual corta la muestra de forma perpendicular a las fibras de la carne, por la parte media, justo en donde se encontró el menor efecto de cavitación acústica, por lo que esta metodología solo toma en cuenta el lugar en donde existe menor daño por efecto de la cavitación. Considerando nuevamente que se requieren de 6 a 10 muestras, las muestras tomadas de la parte de la carne localizada en los extremos del baño de ultrasonido tendrán el mínimo efecto ya que se encuentran en la parte más alejada del transductor (AMSA, 2016).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los tres estudios exploratorios arrojaron resultados valiosos para fijar las condiciones de procesamiento de los trabajos posteriores. En el primer estudio exploratorio se evaluó el efecto de las intensidades sobre las características de calidad de la carne. El equipo de UAI de mayor intensidad tiene mayor efecto sobre las características de calidad evaluadas, fue el baño ultrasónico que arrojó los mejores resultados de textura, pero también fue el que presentó las propiedades de color menos deseables. En el segundo estudio exploratorio, el empaque al vacío en seco evitó el daño por cavitación acústica, ya que las láminas de aluminio permanecieron intactas sin importar la intensidad ultrasónica. Por último, en el tercer estudio exploratorio, el mayor efecto de la cavitación acústica fue a la menor distancia (3 mm), con una tendencia a disminuir el efecto conforme aumenta la distancia al emisor acústico, observando el menor efecto a la mayor distancia evaluada (12 mm). A partir de los resultados obtenidos en los experimentos exploratorios se consideró ultrasonificar las muestras sin empaque dentro del baño ultrasónico de mayor intensidad para investigaciones posteriores.

LITERATURA CITADA

- AMSA. 2016. Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat, 2 Ed. American Meat Science Association, Champaign, USA, 0–104.
- Ashokkumar, M., y T. J. Mason. 2007. Sonochemistry. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.
- Barekat, S., y N. Soltanizadeh. 2017. Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 39:223–229.
- Chang, H.-J., X.-L. Xu, G.-H. Zhou, C.-B. Li, y M. Huang. 2012. Effects of Characteristics Changes of Collagen on Meat Physicochemical Properties of Beef Semitendinosus Muscle during Ultrasonic Processing. *Food Bioproc. Tech.* 5:285–297.
- Chivate, M. M., y A. B. Pandit. 1995. Quantification of cavitation intensity in fluid bulk. *Ultrason. Sonochem.* 2:19–25.
- Coll Cardenas, F. J., y D. F. Olivera. 2016. Texture Changes in Meat During Storage. Reference module in food science.
- Fernandes, F. A. N., M. I. Gallão, y S. Rodrigues. 2008. Effect of osmotic dehydration and ultrasound pre-treatment on cell structure: Melon dehydration. *LWT - Food Sci. Technol.* 41:604–610.
- Fernandes, F. A. N., M. I. Gallão, y S. Rodrigues. 2009. Effect of osmosis and ultrasound on pineapple cell tissue structure during dehydration. *J. Food Eng.* 90:186–190.
- Gao, J., Y. Wang, L. Liu, K. Li, S. Zhang, y J. Zhu. 2016. Effects of ultrasound, CaCl₂ and STPP on the ultrastructure of the milk goat longissimus muscle fiber observed with atomic force microscopy. *Scanning* 38:545–553.
- Gómez-Salazar, J. A., D. A. Ochoa-Montes, A. Cerón-García, C. Ozuna, y M. E. Sosa-Morales. 2018. Effect of Acid Marination Assisted by Power Ultrasound on the Quality of Rabbit Meat. *J. Food Qual.* 2018:1–6.
- Got, F., 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 physico-chemical properties of beef. *Meat Sci.* 51:35–42.
- Hansen, S., T. Hansen, M. D. Aaslyng, y D. V. Byrne. 2004. Sensory and instrumental analysis of longitudinal and transverse textural variation in pork longissimus dorsi. *Meat Sci.* 68:611–629.
- Hygreeva, D., y M. C. Pandey. 2016. Novel approaches in improving the quality and safety aspects of processed meat products through high pressure

- processing technology - A review. *Trends Food Sci. Technol.* 54:175–185.
- 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.* 7:301–319.
- 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.
- Kang, D. cheng, X. qin Gao, Q. feng Ge, G. hong Zhou, y W. gang Zhang. 2017. Effects of ultrasound on the beef structure and water distribution during curing through protein degradation and modification. *Ultrason. Sonochem.* 38:317–325.
- Li, X., Y. Wang, Y. Y. Sun, D. D. Pan, y J. X. Cao. 2018. The effect of ultrasound treatments on the tenderizing pathway of goose meat during conditioning. *Poult. Sci.* 97:2957–2965.
- Llull, P., S. Simal, J. Benedito, y C. Rosselló. 2002. Evaluation of textural properties of a meat-based product (sobrassada) using ultrasonic techniques. *J. Food Eng.* 53:279–285.
- Lyng, J. G., P. Allen, y B. M. McKenna. 1997. The influence of high intensity ultrasound baths on aspects of beef tenderness. *J. Muscle Foods* 8:237–249.
- Ozuna, C., A. Puig, J. V García-Pérez, A. Mulet, y J. A. Cárcel. 2013. Influence of high intensity ultrasound application on mass transport, microstructure and textural properties of pork meat (*Longissimus dorsi*) brined at different NaCl concentrations. *J. Food Eng.* 119:84–93.
- Peña-Gonzalez, E., A. D. Alarcon-Rojo, I. Garcia-Galicia, L. Carrillo-Lopez, y M. Huerta-Jimenez. 2019. Ultrasound as a potential process to tenderize beef: Sensory and technological parameters. *Ultrason. Sonochem.* 53:134–141.
- Pohlman, F. W., M. E. Dikeman, y J. F. Zayas. 1997. The effect of low-intensity ultrasound treatment on shear properties, color stability and shelf-life of vacuum-packaged beef semitendinosus and biceps femoris muscles. *Meat Sci.* 45:329–337.
- Vaidya, H. A., Ö. Ertunç, T. Lichtenegger, A. Delgado, y A. Skupin. 2016. The penetration of acoustic cavitation bubbles into micrometer-scale cavities. *Ultrasonics* 67:190–8.
- Wan, Y., H. Wang, W. Wang, L. Zan, y J. Zhu. 2018. Effect of Ultrasound and Calcium Chloride on the Ultrastructure and the Warner-Bratzler Shear Force Value of Beef Shank Muscle Fibers. *Food Biophys.* 13:396–403.
- Warner, R. D., A. E. D. Bekhit, R. Vaskoska, A. Sikes, M. Ha, C. K. McDonnell, F. R. Dunshea, y J. Claus. 2017. Systematic review of emerging and innovative technologies for meat tenderisation. *Meat Sci.* 132:72–89.

- van Wijngaarden, L. 2016. Mechanics of collapsing cavitation bubbles. *Ultrason. Sonochem.* 29:524–7.
- Zhao, G.-Y., M.-Y. Zhou, H.-L. Zhao, X.-L. Chen, B.-B. Xie, X.-Y. Zhang, H.-L. He, B.-C. Zhou, y Y.-Z. Zhang. 2012. Tenderization effect of cold-adapted collagenolytic protease MCP-01 on beef meat at low temperature and its mechanism. *Food Chem.* 134:1738–44.

CAPÍTULO II.- TIME MATTERS WHEN ULTRASONICATING BEEF: THE BEST TIME FOR TENDERNESS IS NOT THE BEST FOR REDUCING MICROBIAL COUNTS

BY:

Sergio Diaz-Almanza¹, Raul Reyes-Villagrana², Alma D. Alarcon-Rojo¹, Mariana Huerta-Jimenez², Luis M. Carrillo-Lopez², Christopher Estepp³, Jessica Urbina-Perez⁴, Ivan A. Garcia-Galicia^{1*}

¹ Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, Mexico.

² Catedrático CONACYT-UACH, Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, Mexico.

³ Animal Science Department, Sul Ross State University, Alpine, Texas.

⁴ Departamento de Producción Agrícola y Animal, Unidad Xochimilco, Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, Mexico.

J. Food Process Eng. 42:1–9. doi:10.1111/jfpe.13210.

RESUMEN

EL TIEMPO IMPORTA AL ULTRASONICAR RES. EL MEJOR TIEMPO
PARA SONICAR, NO ES EL MEJOR PARA REDUCIR CONTEOS
MICROBIANOS.

POR:

M.C. SERGIO DÍAZ ALMANZA

Doctor in Philosophia en Producción Animal

Universidad Autónoma de Chihuahua

Facultad de Zootecnia y Ecología

Secretaría de Investigación y Posgrado

Presidente: Ph. D. Iván Adrián García Galicia

La investigación sobre los efectos del ultrasonido de alta intensidad (HIU) en las propiedades de calidad de la carne muestra resultados contradictorios. Esto último a veces se ha atribuido al tiempo de exposición limitado, no lo suficiente como para causar modificaciones celulares. Este estudio evaluó el efecto de diferentes tiempos de exposición (0, 10, 20 y 40 min) de HIU (37 kHz, 90 W cm⁻²) sobre las propiedades fisicoquímicas que incluyen; pH, color, terneza y conteos microbianos de dos porciones diferentes (craneal-caudal) de carne de res (*Longissimus lumborum*). No se observó ningún efecto significativo de la porción de lomo ($P > 0.05$). El tiempo de ultrasonido causó una reducción de la terneza de la carne de res del 20.7% ($P < 0.05$). Sin embargo, el tiempo de ultrasonidos también aumentó el tono de 0.62 a 0.76 de rojo a naranja ($P < 0.05$), pero no afectó coordenadas

importantes como a^* o C^* . La ultrasonificación causó un aumento en el pH de 5.46 a 5.6 ($P < 0.05$), pero el pH no se vio afectado por el tiempo. La mayor ternura se logró a los 40 min de sonicación. Se observaron reducciones significativas de mesófilos, psicrófilos y coliformes después de la ultrasonificación en comparación con el control ($P < 0.05$). La mejor condición ultrasónica para la reducción microbiana fue a los 10 minutos, cuando se lograron los recuentos de microorganismos más bajos, con un crecimiento posterior al aumentar el tiempo de ultrasonidos.

ABSTRACT

TIME MATTERS WHEN ULTRASONICATING BEEF. THE BEST TIME FOR TENDERNESS IS NOT THE BEST FOR REDUCING MICROBIAL COUNTS

BY

SERGIO DÍAZ ALMANZA

Research on the effects of high-intensity ultrasound (HIU) on meat quality properties shows contradictory results. The latter has been sometimes attributed to limited exposure time, not enough to cause cellular modifications. This study evaluated the effect of different exposure times (0, 10, 20, and 40 min) of HIU (37 kHz, 90 W cm⁻²) on physicochemical properties including; pH, color, tenderness, and microbial counts of two different portions of beef *Longissimus lumborum* (cranial– caudal). No significant effect of loin portion was observed ($p > .05$). Ultrasonication time caused a 20.7% toughness reduction of beef ($p < .05$). However, ultrasonication time also increased hue from 0.62 to 0.76 from red to orange values ($p < .05$), but it did not affect important coordinates such as a^* or C^* . Ultrasound caused an increase in the pH from 5.46 to 5.6 ($p < .05$), but pH was not affected by the time. The highest tenderness was achieved at 40 min of sonication. Significant reductions of mesophiles, psychrophiles, and coliforms were observed after ultrasonication when compared to control ($p < .05$). The best ultrasonic condition for microbial reduction was at 10 min, when the lowest microorganism counts were achieved, with a subsequent growth when increasing ultrasonication time.

INTRODUCTION

Texture and particularly tenderness is one of the main characteristics that determine meat quality and consumer acceptability (Jayasooriya, Torley, D'Arcy, & Bhandari, 2007; Obuz, Akkaya, Gök, & Dikeman, 2014). Myofibrillar and connective tissue are considered the main factors contributing to the texture quality of beef. Traditional meat tenderization methodologies have included chemical and physical methods. However, each of these methods has its own disadvantages, affecting the meat characteristics such as flavor or appearance, or being impractical during application (Jayasooriya *et al.*, 2007). For instance, chemical interventions such as incorporation of salts, organic acids, phosphates, and enzymes to meat through marination, immersion, or injection, usually are time consuming, potentially a source of cross contamination and may modify the flavor of meat. Physical methods such as tumbling and tenderbound are time and high-energy consuming, and also may cause cross contamination (Bhat, Morton, Mason, & Bekhit, 2018). Therefore, research on methodologies to improve texture without negatively affecting other quality characteristics is continuously demanded.

High intensity-low frequency ultrasound (HIU, 20–100 kHz with 10–1,000 W cm⁻²) can be used to create structural changes in tissue (Alarcón-Rojo, Janacua, Rodríguez, Paniwnyk, & Mason, 2015). HIU has been used in a wide range of applications, since it can potentially affect many different foodstuffs (i.e., milk, pineapple, apple, melon, banana, and meat) and food quality by-processes such as, emulsification, crystallization, activation or

inhibition of enzymes, cell damage, and antimicrobial activity among others (Alarcón-Rojo *et al.*, 2015; Almanza-Rubio, Gutiérrez-Méndez, Leal-Ramos, Sepulveda, & Salmeron, 2016; Musielak, Mierzwa, & Kroehnke, 2016; Ojha, Keenan, Bright, Kerry, & Tiwari, 2016; Ozuna, Paniagua-Martínez, CastañoTostado, Ozimek, & Amaya-Llano, 2015; Turantas, Kılıç, & Kılıç, 2015). When applied in an aqueous medium, HIU can cause cellular disruption by cavitation. The formation and implosion of microbubbles results in a release of energy to the medium, causing damage at a micro or macroscale in the myofibrillar or connective tissue structures in meat (Alarcón-Rojo *et al.*, 2015; Jayasooriya *et al.*, 2007). Additionally, ultrasonication may promote enzymatic reactions, such as; higher autolysis, calpain activation, and degradation of desmin and troponinT, resulting in an improved meat texture (Boistier-Marquis, LagsirOulahal, & Callard, 1999; Wang *et al.*, 2018).

Food safety is of high importance in meat industry, spoiled meat can develop undesirable changes that cause economic loss or even health problems in case of consumption. HIU has also been considered as an alternative decontamination technology. HIU has been tested for *Escherichia coli*, mesophilic bacteria, coliforms and psychrophilic bacteria. Furthermore, significant microbial reduction is achieved when ultrasound is applied in combination with other methods such as pulsed electric fields, pressure, irradiation, mild temperatures, or brining among others (Condón, Mañas, & Cebrián, 2011; Kang, Jiang, Xing, Zhou, & Zhang, 2017; Turantas, *et al.*, 2015).

Nevertheless, effects of HIU on meat are contradictory. Some authors have reported a significant increase in tenderness (AlarcónRojo *et al.*, 2015; Chang, Xu, Zhou, Li, & Huang, 2012; Hu *et al.*, 2014; Smith, Cannon, Novakofski, McKeith, & O'Brien, 1991), while others have found no effect (Got *et al.*, 1999; Lyng, Allen, & McKenna, 1997; Sikes, Mawson, Stark, & Warner, 2014) or even negative effects (Ozuna, Puig, García-Pérez, Mulet, & Cárcel, 2013). Some of this contradiction can be attributed to the inconsistency in time used when applying HIU. Likely, only some durations provide ideal conditions creating structural changes in meat fibers. In meat, frequency ranges of 15 kHz–2.6 MHz, intensity ranges of 0.29–10 W cm⁻², and time ranges of 15 s to 90 min, individually applied per side, have been reported (Alarcon-Rojo, Carrillo-Lopez, Reyes-Villagrana, HuertaJiménez, & Garcia-Galicia, 2019; Got *et al.*, 1999; Lyng *et al.*, 1997; Pohlman, Dikeman, & Kropf, 1997; Sikes *et al.*, 2014). However, the widest used frequencies in foods are in the range of 20–1 MHz and intensities >10 W cm⁻² (Ashokkumar, 2015). Hence, it is necessary to compare the effects of different ultrasonication times, to determine if the duration of exposure to HIU has an effect on meat quality. This study aimed to evaluate the effect of HIU exposure time (*Longissimus lumborum*) on color, pH, tenderness, and antimicrobial activity, when applied to different portions of beef loin.

MATERIALS AND METHODS

Raw Materials and Sample Preparation

Bovine loins (*L. lumborum*) were obtained from a commercial supplier. They originated from Angus × Cebu crosses (around 410 kg of slaughter weight and 21 m age) finished on feedlot. Following the regular slaughtering process in federal inspected abattoirs (TIF by its Spanish acronym in Mexico), animals were sacrificed after 12 hr of resting, stunned by captive bolt pistol. Ten right loins were vacuum packed and fast-frozen at -18°C after 72 hr postmortem. This is for beef processing in Mexico, where meat aging is not a common practice in the industry. Additionally, fast-freezing the muscles allowed to uniformly cut them into 25 mm thick steaks (14 steaks/loin). Steaks were divided in frontal or caudal loin portion, according to the origin of the muscle. They were kept at -18°C for 4 weeks as a simulation of maximum storage before consumers acquired the meat. Steaks were then thawed at 20°C , and 10×5 cm samples were dissected and separated from the central part of the steak using a sharpened knife. Steaks of each loin portion were randomly assigned to one of the four ultrasonication times.

Ultrasound Treatments

Ultrasound treatments (frequency = 37 kHz, intensity = 90 W cm^{-2}) were conducted using an ultrasonic bath (Elmasonic S 60 H, Singen, Germany). The bath was filled with 1 L of distilled water and the unpacked sample was placed at the bottom of the ultrasonic bath. Ultrasound exposure time was 0, 10, 20, or 40 min. Samples were directly placed in the water to assure that the

possible effect was caused by the cavitation phenomenon, a physical plastic layer could attenuate or modify the effect of the cavitation inside the pack (Carrillo-Lopez, Alarcon-Rojo, Luna-Rodriguez, & Reyes-Villagrana, 2017; Garcia-Galicia *et al.*, 2019). To ensure an even exposure to ultrasonic waves, the steak was turned at the middle of the ultrasonication time. Temperature was controlled at 4 °C with an immersion cooler (Julabo, FT 200, Seelbach, Germany). Unsonicated steaks that underwent the same procedure were used as control treatment.

Color Analysis

Meat color was determined instrumentally with a colorimeter (Konica Minolta Camera, UK, Aperture, 8 mm, Illuminant C, D₆₅) before and after ultrasound treatment. Excessive water from bath was gently removed with absorbent paper. After 10 min, color coordinates L*, a*, b*, and C* were directly registered by the colorimeter (CIELab, 2004). Hue angle was calculated according to Equation 15. Measurements were performed in triple for each sample, in a triangular form on the meat surface.

$$^{\circ}Hue = artg\left(\frac{b^{*}}{a^{*}}\right) \quad (15)$$

pH

Meat pH was determined instrumentally with a digital pH meter (Hanna Instruments, HI99163, Romania) before and after ultrasound treatment. The electrode was placed at 1.5 cm depth into the meat to read the value. Measurements were developed randomly in triangular form on the sample.

Shear Force Analysis

Textural analysis was conducted using the Warner-Bratzler (BW) methodology (Hunt *et al.*, 2012). Steaks were cooked simultaneously on both sides on an electric grill (George Foreman, GR2080R, China) until a temperature of 71 °C at the thermic center was reached. Shear force was analyzed with a TA XT Plus (UK) and sheared with the WB blade at a speed of 2 mm/s. Positive peak force (N) and the positive area (N*s) were registered. The mean values from the 10 measurements were used for data analysis.

Microbial Activity

Samples were placed on plates after treatment and three exudates of 5 ± 2 mL were collected from each treatment. From these, decimal dilutions (10^{-1} to 10^{-6}) were prepared, using 0.1% peptone as sterile diluent. From each dilution, 1,000 μ L was inoculated onto the corresponding culture medium. Mesophilic and psychophilic bacteria count was determined by the spread plate technique. Mesophiles were incubated aerobically onto plate count agar (Sigma–Aldrich, Spain) at $35 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for $48 \text{ hr} \pm 2 \text{ hr}$. Psychrophiles were incubated aerobically onto plate count agar (Sigma–Aldrich, Spain) at 4C for $168 \pm 2 \text{ hr}$. Coliforms bacteria and *Escherichia coli* were determined anaerobically by inoculating the dilution into E. coli/ coliforms plates (3M Petrifilm, Mexico) and incubated at $37\text{C} \pm 1\text{C}$ for 18–24 hr. The colony forming unit (CFU) was evaluated. Each $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ value was transformed to logarithmic units (Log10).

Statistical Analysis

The experiment followed a 2×3 factorial randomized block design (2 parts of the loin and 3 times of exposure to ultrasound). The effect of loin type and exposure time on the measured meat quality variables (color, pH, shear force, microbial activity) was analyzed using a generalized linear model. Tukey tests were performed to evaluate significant differences among means ($\alpha = .05$) (IBM SPSS, 2008).

RESULTS AND DISCUSSION

Color

Color parameters of beef after ultrasonication are shown in Table 7. None color coordinates were affected by loin portions ($p > .05$). Lightness (L^*) in meat is referred to as the light-reflective ability of the tissue surface. L^* was higher ($p < .05$) after ultrasound treatment and presented slightly higher values as sonication time increased. Other authors have found similar effects when ultrasonicing (11 W cm^{-2}) beef *Semitendinosus* steaks for 60 and 90 min (Caraveo, Alarcon-Rojo, Renteria, Santellano, & Paniwnyk, 2015). They described an increase in L^* when beef was sonicated (either 60 or 90 min) compared to control (nonsonicated), but no differences between 60 and 90 min of sonication. A rise of L^* in meat can be commonly associated with an increase of free water at the meat surface, which reflects more light (Warriss, 2010). In this study, a higher exposition of meat to ultrasound waves and the cavitation may promote water liberation on the beef surface by alteration of superficial structures which could result in an increase in lightness. Hence, this effect cannot always be considered as beneficial to meat quality.

Redness (a^*) tended to decrease with increased time of ultrasonication (Table 7), but no significant differences were detected ($p > .05$). Redness (a^*) is probably the most important color coordinate for beef, since a decline in this

Table 7. Effect of ultrasonication (F = 37kHz, I = 90W/cm²) time on color parameters (L*, a*, b*, °Hue and Chroma. mean ± S.E.) in bovine *Longissimus lumborum*

Time (min)	L	a	b	°Hue	Chroma
Control 0	33.02±0.05 ^c	20.91±1.52 ^a	14.78±1.08 ^a	0.62±0.01 ^c	25.61±1.86 ^a
10	43.08±1.49 ^b	19.72±2.38 ^a	15.74±1.50 ^a	0.68±0.02 ^{bc}	25.27±2.77 ^a
20	44.36±1.73 ^{ab}	17.62±2.19 ^a	14.62±1.31 ^a	0.71±0.03 ^{ab}	22.95±2.48 ^a
40	46.95±1.48 ^a	15.43±1.41 ^a	14.37±0.7 ^a	0.76±0.02 ^a	21.13±1.50 ^a
P	<0.0001	0.195	0.848	<0.0001	0.427

a, b, c Different superscripts mean significant differences within the same column.

variable is directly linked to an undesirable and rejected color (Mancini & Hunt, 2005). However, ultrasonication of beef under the conditions of this study did not significantly affect redness.

Yellowness (b^*) of beef was not affected ($p > .05$) after ultrasound (Table 1). b^* is highly influenced by factors affecting the redox state of myoglobin in meat (Lindahl, Lundström, & Tornberg, 2001). An increase in yellowness of meat has been related to brown colorations (O'Sullivan, Byrne, & Martens, 2003). Hence, b^* upturns may be considered a disadvantage, because brown meat colorations may lead to consumer unacceptance (Nowak, Ropelewska, Bekhit, & Markowski, 2017). However, in this study HIU did not produce brown colorations of beef *L. lumbarum* at the tested sonication times.

Sonication time did not significantly affect chroma ($p > .05$), although a decreasing trend can be observed with an increase in sonication time (Table 1). Since chroma (C^*) is considered the intensity of an object color and includes both a^* and b^* coordinates, it represents a more integrated variable, by which to evaluate beef. In beef, a value of C^* below 18 has been identified as the lowest threshold for consumer acceptance (MacDougall, 1982). In the present study, chroma values were far from the threshold, ranging from 21.13 to 25.61. Negative trends were observed on redness and chroma with HIU application, however not significant effect ($p > .05$) was found on these coordinates. Redness and chroma are the most relevant for the cherry-red

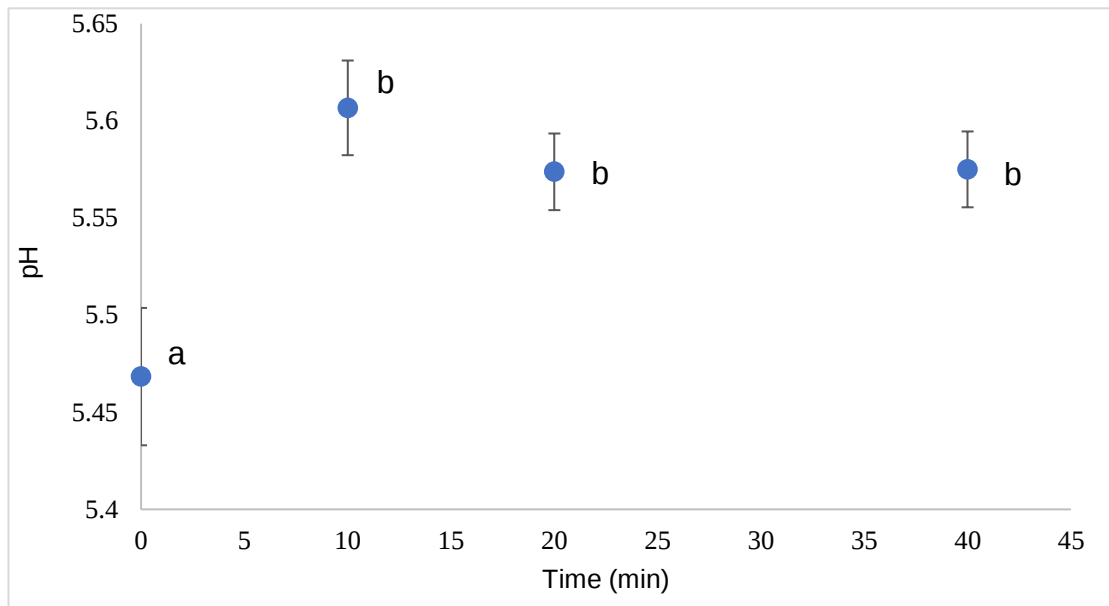
color sought by consumers on the market (Killinger, Calkins, Umberger, Feuz, & Eskridge, 2004; Olivera, Bambicha, Laporte, Cárdenas, & Mestorino, 2013).

Hue angle was increased by ultrasound treatment after only 20 min of ultrasonication, and continued to increase with an increase in sonication time (Table 1). Higher values of hue angle in beef indicate less red colors (Hernández, Sáenz, Alberdi, & Diñeiro, 2016). Additionally, in meat hue angle is strongly related to MMb. For instance, in lamb (*Longissimus dorsi*), hue angle and MMb content were correlated as high as $r = .931$ (Luciano *et al.*, 2011). In beef *L. lumbarum*, a correlation of $r = .96$ between hue angle and hue proportions was found (Hernández *et al.*, 2016).

Despite an increase in hue angle and L^* , redness and chroma were not affected by HIU. Since temperature was controlled at 4 °C during ultrasonication, the change of color cannot be due to thermal denaturalization or pigment oxidation. In addition, control samples were processed in the same way as HIU exposed samples. Similar results were obtained by Pohlman, Dikeman, and Zayas (1997) in their study where ultrasound was applied on unpacked beef. Conversely, other studies did not observe differences in color parameters (Jayasooriya *et al.*, 2007; Stadnik & Dolatowski, 2011). These differences in results could be attributed to use of polyethylene bags during the ultrasonication that decrease the extraction of myoglobin and hemoglobin meat pigments (Pohlman, Dikeman, & Zayas, 1997).

pH

Loin portions did not have significant differences ($p > .05$) on pH. Ultrasonication caused a significant increase in the pH ($p < .05$) compared to control in *L. lumbarum*, but no differences ($p > .05$) were found between ultrasonication times (Graph 3). Jayasooriya *et al.* (2007) attributed an increase in the pH after ultrasonication to cellular disruptions leading to the release of ions that cause protein structural modifications, hiding acid groups. Wang *et al.* (2018)) also reported an increase of pH from 5.51 to 5.60 in nonaged beef. Nonetheless, they did not find differences in pH when the meat was ultrasonicated from 40 to 60 min. They attributed the changes in pH to a possible buried acidic group caused by damage in cell structures and changes in protein conformation. When HIU (100 and 300 W) is applied directly to beef myofibrillar proteins for 10, 20, and 30 min, the pH of the protein extract also increases from the first 10 min of sonication. In the case of myofibrillar proteins, the pH increment has recently been attributed to a denaturation of proteins and the production of free radicals that interact with protein side chains, resulting in a decrease of protein acidic groups (Amiri, Sharifian, & Soltanizadeh, 2018). In this study, a slight increase in the pH in fresh beef may be desirable since it would indirectly promote meat tenderization via enzymatic processes. Cathepsins B and L have an optimum activity at a moderate acidic pH (5.0–5.6). A strong rise in the pH may also promote desmin, troponin-T, nebulin, titin, and filamin proteolysis by μ -calpain activity. It has been observed a faster



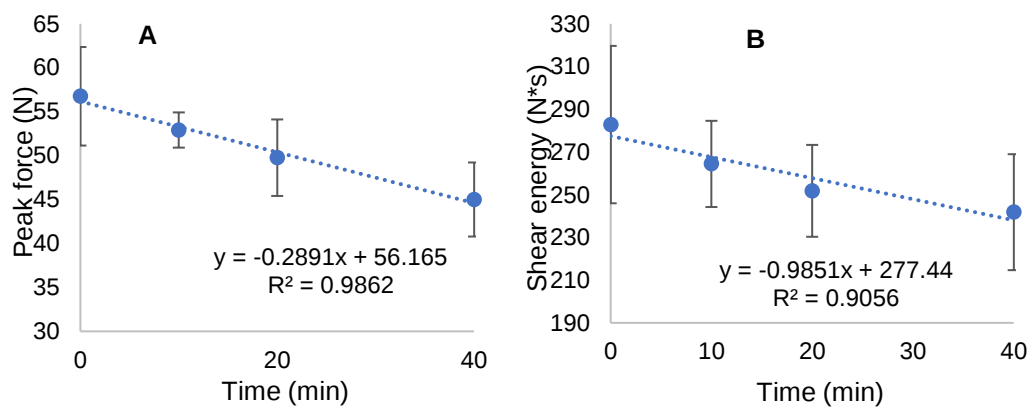
Graph 3. pH (mean $\pm$ S.E.) in beef *Longissimus lumborum* at different ultrasonication times (F = 37kHz, I = 90W/cm²). ^{a, b} Different superscripts mean significant differences among ultrasonication times.

troponin-T and desmin degradation when HIU was applied to Semitendinosus beef (Wang *et al.*, 2018). On the other hand, a pH increase can also produce calpain inhibition promoted by calpastatin (Chereta *et al.*, 2007; Jayasooriya *et al.*, 2007).

The pH has been reported to be important for normal development of the transformation from muscle to meat (Lawrie & Ledward, 2006). It has also been related to other important quality traits during this process. For example, beef color was found to be highly dependent on pH (Wyrwicz, Półtorak, Zalewska, Zaremba, & Wierzbicka, 2012). In this study, there were moderate correlations of pH with L* ($r = .573$, $p = .0006$), and of pH with Hue angle ($r = .546$, $p = .0012$). There was also a negative correlation of pH with a* ($r = -.372$, $p = .036$), and absence of a correlation between pH and b* ($r = -.198$, $p = .27$). This is in partial agreement with previous reports (Wyrwicz *et al.*, 2012), a strong negative correlation of with redness ($r = -.742$ to $-.828$, $p < .001$) and yellowness ($r = -.72$ to $.91$, $p < .001$) in different muscles, and a strong positive correlation with lightness ($r = .75$ to $.83$, $p < .001$), which, as mentioned before, may not be considered an advantage.

Shear Force

There were no differences in shear force between frontal or caudal portions of loins. Important differences ($p < .05$) in meat peak force (hardness) and positive area (shear energy) were found among sonication times (Graph 4). Longer exposure times to ultrasound treatment reduced the force and



Graph 4.- Effect of total sonication time (half per side) on beef *Longissimus lumborum* texture (**A** Warner-Bratzler peak force and **B** Positive area).

energy needed to cut the fibers in fresh meat, up to 11.74 N and 41 N*s, respectively, resulting in an improved tenderness and a remarkable quadratic relation time*tenderness.

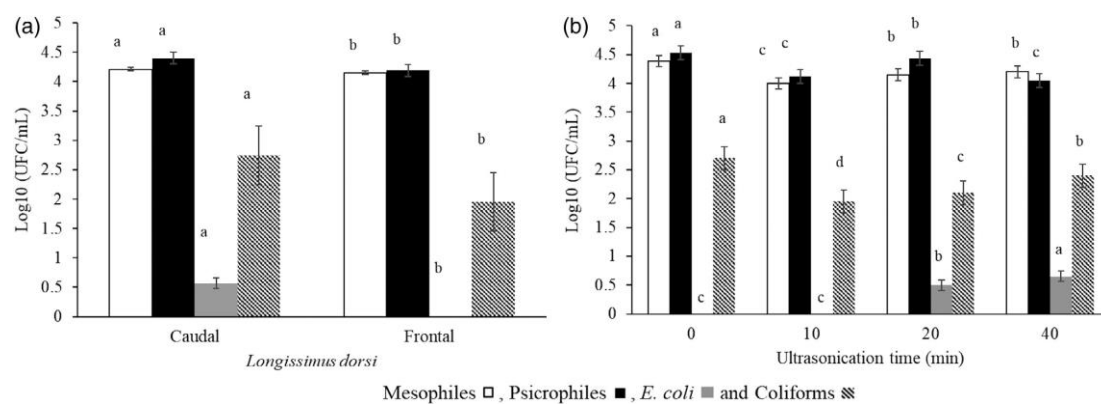
The effect of ultrasonic cavitation may cause a reduction of hardness in the meat, producing an improvement of tenderness. This favorable effect is reported in a wide variety of meat products, including pork, chicken, jumbo squid, and beef (Hu *et al.*, 2014; Jayasooriya *et al.*, 2007; Ozuna *et al.*, 2013; Stadnik & Dolatowski, 2011). This effect is the result of jet streams created in the liquid medium that cause micro or macroscale structural changes in the meat fibers, leading to tendering (Alarcón-Rojo *et al.*, 2015). Other studies show scanning electron microscopy images of sonicated pork meat, where bubble implosions caused disruption of myofibrils (Ozuna *et al.*, 2013). As well, ultrasonication-assisted cooking of spiced beef for 120 min, increased gaps between myofibrils and rupture of myofibrils along with Z-lines (Zou, Zhang, Kang, & Zhou, 2018).

More recently, when combining ultrasound (20–40 kHz; 150, 300, or 1500 W) with other tenderization methods such as brining, it has been reported that HIU reduces WB shear forces in Semitendinosus beef, after 30 min of exposition (Chang, Wang, Tang, & Zhou, 2015; Kang, Gao, Ge, Zhou, & Zhang, 2017). Ultrasonication time can be reduced to 20 min in order to observe benefits in tenderness, when sonication (20 kHz; 100 and 300 W) is combined with application of extrinsic enzymes such as papain (Barekat & Soltanizadeh, 2017, 2018).

In other species such as pork and poultry, HIU has also been shown to reduce shear force. When applied during the brining process, at 54.9 W cm^{-2} intensity for 120 min, ultrasound reduces the shear force for at least 5 N in Semimembranosus pork (Ojha *et al.*, 2016). In chicken breast batter, ultrasound (40 kHz, 300 W) reduced the hardness by 5.4 N and improved texture, when applied for at least 40 min (Li, Kang, Zou, Xu, & Zhou, 2015). In addition, benefits of ultrasonication on tenderness of beef have been reported when evaluated by panelists; HIU application (40 kHz, 11 W cm^{-2} , for 60 min) increased the trained-panel perception of softer, juicier, and tender beef compared to nonsonicated meat (Peña-González *et al.*, 2017).

Microbial Activity

Ultrasonic time effect on mesophiles, psychrophiles, coliforms, and *Escherichia coli* are shown in Graph 5. The lowest count of any MOO evaluated was observed at 10 min of ultrasonication. In some cases, longer ultrasonic times resulted in an increase of the MOO load ($p < .05$). Mesophiles decreased significantly at 10 min of ultrasonication and increased at 20 ($p < .05$), with no significant increase at 40 min ($p > .05$). Ultrasound probably promoted the growth of mesophilic bacteria when it was applied for 20 min. The strongest reduction in psychrophilic bacteria load was at 10 and 40 min of ultrasonication ($p < .05$), with an increase at 20 min. Which is however, still lower than in the control condition. *E. coli* was under the detection level at 0



Graph 5.-Effect of (a) muscle part and (b) ultrasonication time at 4°C on mesophiles, psychrophiles, *Escherichia coli*, and coliforms obtained from *Longissimus lumborum*. Different letters indicate significant differences for the same microorganism ($p < .05$)

and 10 min of ultrasonication and they were detected from 20 min and increases at 40 min. Coliforms had a significant decrease at 10 min of ultrasonication ($p < .05$). Subsequently, coliforms keep growing with ultrasonication time, but are still lower than in control meat ($p < .05$). Initial decrease of microbial counts could be caused by ultrasonication and thermal change decreasing from 20 to 4 °C leading to a lag phase, where the microorganisms are adapting to the temperature and ultrasonication. At longer ultrasonication time, a change in growth phase is observed, probably from lag to log phase. Increase of bacterial counts after a period of ultrasonication may be multifactorial.

Sams and Feria (1991) proposed that this is caused by the release of nutrients from meat subjected to cavitation. Additionally, ultrasound may increase the rate of transport of oxygen and nutrients into bacterial cells enhancing their growth (Pitt & Ross, 2003).

It has been reported that the bacteria capsule is an important property for resistance to ultrasound, as well as size, shape, and their state of growth (Gao, Lewis, & Hemar, 2016). For Gram-negative bacterium, such as *E. coli*, ultrasound worked first on the outer membrane rather than the cytoplasmic membrane (J. Li *et al.*, 2016), the presence of organic components from meat around bacterial cells may provide some protection against cavitation. In pork meat, *E. coli* was reduced by 2.1–2.5 log from its initial inoculated *E. coli* load (10^4 CFU cm^{-2}) when ultrasound (30–40 kHz) was applied with steam (130 °C) from 0.5 to 2 s, with no significant differences between times (Morild, Christiansen, Sørensen, Nonboe, & Aabo, 2011). In chicken, ultrasound (40 kHz, 2.5 W cm^{-2}) applied in distilled water or 1% lactic acid solution (20 °C) for

3 or 6 min, caused a reduction of some inoculated Gram-negative bacteria, where the greatest reduction in *E. coli* was at 6 min in distilled water. That was attributed to acoustic pressure changes and cavitation, leading to cell membrane diffusion problems. However, the reduction of the other Gram-negative bacteria was highest in lactic acid solution (*Salmonella enterica* ssp. *enterica* sv. *Anatum*, *Proteus* sp., and *Pseudomonas fluorescens*) and at a longer ultrasound exposure time (6 min (Kordowska-Wiater & Stasiak, 2011)).

Other proposed explanations for the apparent raise of MOOs number by HIU in beef are; the type of MOO and structural changes in tissue that protect bacterial cells. When sonicating beef inoculated with *E. coli* and *Bacillus cereus*, it was observed that number of MOOs was differently affected at 0, 30, 60, 90, and 120 min of ultrasonication. *E. coli* was more susceptible to HIU than *B. cereus*. But in agreement to this study, it has been observed that at certain times of ultrasonication (60–90 min), MOOs populations increased. Authors suggested that an increase of perimysial spaces and other cellular structures by HIU, may promote the ingress of bacteria to the tissue, where they are protected from the ultrasound forces (Kang, Jiang, *et al.*, 2017). Apparently, for food decontamination purposes, research on ultrasound combined with additional methods, with a special care on sanitation conditions of equipment, may show improved results compared to ultrasound treatment in distilled water (Alarcón-Rojo *et al.*, 2015; Kang, Jiang, *et al.*, 2017; KordowskaWiater & Stasiak, 2011; Morild *et al.*, 2011; Pagán, Mañas, Alvarez, & Condón, 1999; Turantas, *et al.*, 2015). More recently, an increase of mesophilic and psychrophilic bacteria but a reduction of coliforms has been reported, when beef was ultrasonicated (at 16, 28, and 90 W cm⁻² intensities)

from 20 to 40 min (Carrillo-López, Huerta-Jiménez, GarcíaGalicia, & Alarcón-Rojo, 2019). This reinforces the idea that bacteria species are differently affected by HIU and other factors may play an important role on meat decontamination by ultrasonication.

CONCLUSIONS

HIU caused a notable reduction in meat toughness, and this effect was stronger with an increase in the time of application. This tenderization effect may be attributed to cavitation, causing the cellular disruption of meat fibers resulting in tenderization. The best ultrasound time was 40 min, with a toughness reduction of 20.7%. However, cell disruption caused by ultrasound exposure may promote releasing of meat pigments, which may have caused the observed increase in L^* and hue angle. Thus, the best results for color properties were found in untreated samples. Ultrasound application caused a significant increase in pH still within the limits considered as normal. Microbial reduction was highest at 10 min of HIU application where the lowest microorganism counts were achieved.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the Mexican Council of Science and Technology (CONACyT) through Cátedras CONACyT, Ph.D. Scholarship (PNPC) and Proyecto PN 2015-186.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no potential conflict of interest.

REFERENCES

- Alarcon-Rojo, A. D., Carrillo-Lopez, L. M., Reyes-Villagrana, R., HuertaJiménez, M., & Garcia-Galicia, I. A. (2019). Ultrasound and meat quality: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 55, 369–382. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.016>
- Alarcón-Rojo, A. D., Janacua, H., Rodríguez, J. C., Paniwnyk, L., & Mason, T. J. (2015). Power ultrasound in meat processing. *Meat Science*, 107(Suppl. C), 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.04.015>
- Almanza-Rubio, J. L., Gutiérrez-Méndez, N., Leal-Ramos, M. Y., Sepulveda, D., & Salmeron, I. (2016). Modification of the textural and rheological properties of cream cheese using thermosonicated milk. *Journal of Food Engineering*, 168, 223–230. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.002>
- Amiri, A., Sharifian, P., & Soltanizadeh, N. (2018). Application of ultrasound treatment for improving the physicochemical, functional and rheological properties of myofibrillar proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.167>
- Ashokkumar, M. (2015). Applications of ultrasound in food and bioprocessing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 25(Suppl. C), 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.08.012>
- Barekat, S., & Soltanizadeh, N. (2017). Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.12.009>
- Barekat, S., & Soltanizadeh, N. (2018). Effects of ultrasound on microstructure and enzyme penetration in beef *Longissimus lumborum* muscle. *Food and Bioprocess Technology*, 11(3), 680–693. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-2043-8>
- Bhat, Z. F., Morton, J. D., Mason, S. L., & Bekhit, A. E. D. A. (2018). Applied and emerging methods for meat tenderization: A comparative perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(4), 841–859. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12356>
- Boistier-Marquis, E., Lagsir-Oulahal, N., & Callard, M. (1999). Applications des ultrasons de puissance en industries alimentaires. *Industries Alimentaires et Agricoles*, 116(3), 23–31.
- Caraveo, O., Alarcon-Rojo, A. D., Renteria, A., Santellano, E., & Paniwnyk, L. (2015). Physicochemical and microbiological characteristics of beef treated with high-intensity ultrasound and stored at 4 C. *Journal of the*

- Science of Food and Agriculture, 95(12), 2487–2493.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.6979>
- Carrillo-Lopez, L. M., Alarcon-Rojó, A. D., Luna-Rodriguez, L., & ReyesVillagrana, R. (2017). Modification of food systems by ultrasound. *Journal of Food Quality*, 2017, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2017/5794931>
- Carrillo-López, L. M., Huerta-Jiménez, M., García-Galicia, I. A., & AlarcónRojo, A. D. (2019). Bacterial control and structural and physicochemical modification of bovine longissimus dorsi by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 58, 104608. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2019.05.025>.
- Chang, H. J., Xu, X.-L., Zhou, G.-H., Li, C.-B., & Huang, M. (2012). Effects of characteristics changes of collagen on meat physicochemical properties of beef semitendinosus muscle during ultrasonic processing. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1), 285–297. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0269-9>
- Chang, H.-J. J., Wang, Q., Tang, C.-H. H., & Zhou, G.-H. H. (2015). Effects of ultrasound treatment on connective tissue collagen and meat quality of beef semitendinosus muscle. *Journal of Food Quality*, 38(4), 256–267. <https://doi.org/10.1111/jfq.12141>
- Chereta, R., Delbarre-Ladrat, C., de Lamballerie-Anton, M., VerrezBagnis, V., Chéret, R., Delbarre-Ladrat, C., ... Verrez-Bagnis, V. (2007). Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles. *Food Chemistry*, 101(4), 1474–1479. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.023>
- CIELab. (2004). Colorimetry, 3th ed. Retrieved from http://cie.mogi.bme.hu/cie_arch/kee/div1/tc148.pdf.
- Condón, S., Mañas, P., & Cebrián, G. (2011). Manothermosonication for microbial inactivation. In H. Feng, G. Barbosa-Canovas, & J. Weiss (Eds.), *Ultrasound technologies for food and bioprocessing* (287–319). New York, NY: Springer Science. https://doi.org/10.1007/978-14419-7472-3_11
- Gao, S., Lewis, G., & Hemar, Y. (2016). In M. Ashokkumar (Ed.), *Ultrasonic inactivation of microorganisms BT—Handbook of ultrasonics and sonochemistry*. Singapore: Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-287-470-2_69-1
- Garcia-Galicia, I. A., Huerta-Jimenez, M., Morales-Piñon, C., DiazAlmanza, S., Carrillo-Lopez, L. M., Reyes-Villagrana, R., ... AlarconRojo, A. D. (2019). The impact of ultrasound and vacuum pack on quality properties

- of beef after modified atmosphere on display. *Journal of Food Process Engineering*. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13044>
- Got, F., Culioli, J., Berge, P., Vignon, X., Astruc, T., Quideau, J. M., & Lethiecq, M. (1999). Effects of high-intensity high-frequency ultrasound on ageing rate, ultrastructure and some physico-chemical properties of beef. *Meat Science*, 51(1), 35–42. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)00094-1](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00094-1)
- Hernández, B., Sáenz, C., Alberdi, C., & Diñeiro, J. M. (2016). CIELAB color coordinates versus relative proportions of myoglobin redox forms in the description of fresh meat appearance. *Journal of Food Science and Technology*, 53(12), 4159–4167. <https://doi.org/10.1007/s13197016-2394-6>
- Hu, Y., Yu, H., Dong, K., Yang, S., Ye, X., & Chen, S. (2014). Analysis of the tenderisation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) meat by ultrasonic treatment using response surface methodology. *Food Chemistry*, 160, 219–225. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.085>
- Hunt, M. C., King, A., Barbut, S., Clause, J., Cornforth, D., Hanson, D., ... Mohan, A. (2012). *AMSA meat color measurement guidelines* (Vol.61820). Champaign, IL, USA: American Meat Science Association.
- IBM SPSS. (2008). SPSS Inc. Released 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.
- Jayasooriya, S. D., Torley, P. J., D'Arcy, B. R., & Bhandari, B. R. (2007). Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine Semitendinosus and Longissimus muscles. *Meat Science*, 75(4), 628–639. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.09.010>
- Kang, D., Jiang, Y., Xing, L., Zhou, G., & Zhang, W. (2017). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Bacillus cereus* by power ultrasound during the curing processing in brining liquid and beef. *Food Research International*, 102, 717–727. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2017.09.062>
- Kang, D.-c., Gao, X., Ge, Q., Zhou, G., & Zhang, W. (2017). Effects of ultrasound on the beef structure and water distribution during curing through protein degradation and modification. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 317–325. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.026>
- Killinger, K. M., Calkins, C. R., Umberger, W. J., Feuz, D. M., & Eskridge, K. M. (2004). Consumer visual preference and value for beef steaks differing in marbling level and color. *Journal of Animal Science*, 82(11), 3288–3293. <https://doi.org/2004.82113294x>

- Kordowska-Wiater, M., & Stasiak, D. M. (2011). Effect of ultrasound on survival of gram-negative bacteria on chicken skin surface. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 55, 207–210.
- Lawrie, R. A., & Ledward, D. A. (2006). *Lawrie's meat science* (7th ed.). Cornwall, UK: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- Li, J., Ahn, J., Liu, D., Chen, S., Ye, X., & Ding, T. (2016). Evaluation of ultrasound induced damage to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by flow cytometry and transmission electron microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(6), 1828–1837. <https://doi.org/10.1128/AEM.03080-15>
- Li, K., Kang, Z.-L., Zou, Y.-F., Xu, X.-L., & Zhou, G.-H. (2015). Effect of ultrasound treatment on functional properties of reduced-salt chicken breast meat batter. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 2622–2633. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1356-0>
- Lindahl, G., Lundström, K., & Tornberg, E. (2001). Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Science*, 59(2), 141–151. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(01\)00064-X](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00064-X)
- Luciano, G., Vasta, V., Monahan, F. J., López-Andrés, P., Biondi, L., Lanza, M., & Priolo, A. (2011). Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed a tannin-containing diet. *Food Chemistry*, 124(3), 1036–1042. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.07.070>
- Lyng, J. G., Allen, P., & McKenna, B. M. (1997). The influence of high intensity ultrasound baths on aspects of beef tenderness. *Journal of Muscle Foods*, 8(3), 237–249. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.1997.tb00630.x>
- MacDougall, D. B. (1982). Changes in the colour and opacity of meat. *Food Chemistry*, 9(1–2), 75–88. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(82\)90070-X](https://doi.org/10.1016/0308-8146(82)90070-X)
- Mancini, R. A., & Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100–121. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003>
- Morild, R. K., Christiansen, P., Sørensen, A. H., Nonboe, U., & Aabo, S. (2011). Inactivation of pathogens on pork by steam-ultrasound treatment. *Journal of Food Protection*, 74(5), 769–775. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-338>
- Musielak, G., Mierzwa, D., & Kroehnke, J. (2016). Food drying enhancement by ultrasound—A review. *Trends in Food Science and Technology*, 56, 126–141. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.08.003>

- Nowak, K. W., Ropelewska, E., Bekhit, A. E.-D., & Markowski, M. (2017). Ultrasound applications in the meat industry. In A. E.-D. Bekhit (Ed.), *Advances in meat processing* (p. 586). Boca Raton, FL: CRC Press. Taylor & Francis Group.
- Obuz, E., Akkaya, L., Gök, V., & Dikeman, M. E. (2014). Effects of blade tenderization, aging method and aging time on meat quality characteristics of Longissimus lumborum steaks from cull Holstein cows. *Meat Science*, 96 (3), 1227–1232. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.11.015>
- Ojha, K. S., Keenan, D. F., Bright, A., Kerry, J. P., & Tiwari, B. K. (2016). Ultrasound assisted diffusion of sodium salt replacer and effect on physicochemical properties of pork meat. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(1), 37–45. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13001>
- Olivera, D. F., Bambicha, R., Laporte, G., Cárdenas, F. C., & Mestorino, N. (2013). Kinetics of colour and texture changes of beef during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 50(4), 821–825. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0885-7>
- O'Sullivan, M. G., Byrne, D. V., & Martens, M. (2003). Evaluation of pork colour: Sensory colour assessment using trained and untrained sensory panellists. *Meat Science*, 63(1), 119–129. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00065-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00065-7)
- Ozuna, C., Paniagua-Martínez, I., Castaño-Tostado, E., Ozimek, L., & AmayaLlano, S. L. (2015). Innovative applications of high-intensity ultrasound in the development of functional food ingredients: Production of protein hydrolysates and bioactive peptides. *Food Research International*, 77, 685–696. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.10.015>
- Ozuna, C., Puig, A., García-Pérez, J. V., Mulet, A., & Cárcel, J. A. (2013). Influence of high intensity ultrasound application on mass transport, microstructure and textural properties of pork meat (Longissimus dorsi) brined at different NaCl concentrations. *Journal of Food Engineering*, 119(1), 84–93. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.05.016>
- Pagán, R., Mañas, P., Alvarez, I., & Condón, S. (1999). Resistance of *Listeria monocytogenes* to ultrasonic waves under pressure at sublethal (manosonication) and lethal (manothermosonication) temperatures. *Food Microbiology*, 16(2), 139–148. <https://doi.org/10.1006/fmic.1998.0231>

- Peña-González, E. M., Alarcón-Rojo, A. D., Rentería, A., García, I., Santellano, E., Quintero, A., & Luna, L. (2017). Quality and sensory profile of ultrasound-treated beef. *Italian Journal of Food Science*, 29(3), 463–475. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-85032692363&partnerID=MN8TOARS>
- Pitt, W. G., & Ross, S. A. (2003). Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth. *Biotechnology Progress*, 19(3), 1038–1044. <https://doi.org/10.1021/bp0340685>
- Pohlman, F. W., Dikeman, M. E., & Kropf, D. H. (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 pectoral & muscle. *Meat Science*, 46(1), 89–100. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(96\)00105-2](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(96)00105-2)
- Pohlman, F. W., Dikeman, M. E., & Zayas, J. F. (1997). The effect of low intensity ultrasound treatment on shear properties, color stability and shelf-life of vacuum-packaged beef semitendinosus and biceps femoris muscles. *Meat Science*, 45(3), 329–337. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(96\)00106-4](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(96)00106-4)
- Sams, A. R., & Fera, R. (1991). Microbial effects of ultrasonication of broiler drumstick skin. *Journal of Food Science*, 56(1), 247–248. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb08020.x>
- Sikes, A. L., Mawson, R., Stark, J., & Warner, R. (2014). Quality properties of pre- and post-rigor beef muscle after interventions with high frequency ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(6), 2138–2143. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.03.008>
- Smith, N. B., Cannon, J. E., Novakowski, J. E., McKeith, F. K. &
- O'Brien, W. D. Tenderization of semitendinosus muscle using high intensity ultrasound (vol. 2, 1371–1374). Orlando, FL: IEEE 1991 Ultrasonics Symposium.
- Stadnik, J., & Dolatowski, Z. J. (2011). Influence of sonication on WarnerBratzler shear force, colour and myoglobin of beef (m. semimembranosus). *European Food Research and Technology*, 233(4), 553–559. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1550-5>
- Turantas, F., Kılıç, G. B., & Kılıç, B. (2015). Ultrasound in the meat industry: General applications and decontamination efficiency. *International Journal of Food Microbiology*, 198(1), 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.026>

- Wang, A., Kang, D., Zhang, W., Zhang, C., Zou, Y., & Zhou, G. (2018). Changes in calpain activity, protein degradation and microstructure of beef *M. semitendinosus* by the application of ultrasound. *Food Chemistry*, 245, 724–730. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.12.003>
- Warriss, P. D. (2010). *Meat science: An introductory text*. New York, NY: CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9780851994246.0000>
- Wyrwisz, J., Półtorak, A., Zalewska, M., Zaremba, R., & Wierzbicka, A. (2012). Analysis of relationship between basic composition, pH, and physical properties of selected bovine muscles. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 56(3), 403–409. <https://doi.org/10.2478/v10213-012-0071-8>
- Zou, Y., Zhang, W., Kang, D., & Zhou, G. (2018). Improvement of tenderness and water holding capacity of spiced beef by the application of ultrasound during cooking. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(3), 828–836. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13659>

CAPÍTULO III.- AIRBORNE ULTRASONIC TESTING OF PORK BURGER PATTIES

BY:

M.D. Fariñas¹, E. Ruiz¹, S. Diaz-Almanza², T.E. Gómez Álvarez-Arenas³, J. Benedito¹, J.V. Garcia-Perez¹

¹Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, España

²Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, México

³Instituto de Tecnologías Físicas y de la Información (ITEFI-CSIC), Madrid, España

Proc. Mtgs. Acoust. 38, 032004 (2019); doi: 10.1121/2.0001155

RESUMEN

PRUEBA ULTRASONICA ACOPLADA EN EL AIRE, SOBRE HAMBURGUESAS DE CERDO

POR:

M.C. SERGIO DÍAZ ALMANZA

Doctor in Philosophia en Producción Animal

Universidad Autónoma de Chihuahua

Facultad de Zootecnia y Ecología

Secretaría de Investigación y Posgrado

Presidente: Ph. D. Iván Adrián García Galicia

Se estudió una técnica ultrasónica de transmisión en el aire, para determinar rápidamente las propiedades de textura y sin contacto en las hamburguesas de cerdo con diferentes composiciones, tanto a 5 °C como a 20 °C. Se observó una alta correlación entre la frecuencia de resonancia y la firmeza a 5 ° C ($R = 0.95$), concluyendo que esta técnica muestra un alto potencial para su uso en la industria cárnica.

ABSTRACT

AIRBORNE ULTRASONIC TESTING OF PORK BURGER PATTIES

BY:

SERGIO DÍAZ ALMANZA

An airborne ultrasonic technique was tested for the determination of textural properties rapidly and contactless on pork burger patties under different compositions both at 5 °C and 20 °C. A high correlation between resonance frequency and firmness at 5° C was observed ($R=0.95$), concluding that this technique shows a high potential for its use on meat industry.

Keywords. Air-coupled ultrasound, Ground Meat, Characterization, Firmness, Texture

INTRODUCTION

Meat industry is demanding non-destructive sensors in order to estimate both the composition and the textural properties of raw meat and processed-products (Villamiel *et al.*, 2017). Airborne ultrasound emerges as a potential alternative for testing, due to its non-destructive and non-invasive nature and its easy on-line automation. Therefore, the feasibility of air-coupled ultrasonic technology to assess the percentage of fatty tissues and the textural properties of burger-shaped ground pork meat was addressed in this study (Benedito *et al.*, 2001).

METHODOLOGY

Sample Preparation

Samples were prepared using lean pork tissue mixed with pork lard covering compositions of 0, 20, 40, 60 and 80% of added fat tissue. Each batch was first ground by hand in order to homogenize the mix and after that was placed in a household tool consisting of two parallel stainless steel plates, whose separation could be adjusted by acting over a screw. In this case, patties with thickness of 15 ± 1 mm were obtained, wrapped with low-density polyethylene. Afterwards, the air from the samples were removed using a vacuum chamber and they were again placed in the household tool for re-shaping. Finally, the burgers were kept at 5 °C during 48 hours until ultrasonic measurements. A total of 3 sets containing 5 burgers (0, 20, 40, 60 and 80% of added fatty) were made.

Proximate Analysis

Actual fat content was determined by solvent extraction and moisture oven drying for each burger and is shown in Table 8.

Non-contact Ultrasonic Method

Burger samples were located in a holder aligned with a central hole of about 3 cm between two pair of ultrasonic transducers optimized for its use in air (Álvarez-Arenas, 2013) (US-BioMat lab; ITEFI-CSIC, Madrid) at a distance of 5 cm from each other. All measurements were performed in through transmission configuration. We used 400 V and semi-cycle of square wave tuned to 250 kHz (according to the central frequency of the transducers) to excite the transmitter (5077PR, Olympus, Houston, TX, USA). The signal was amplified and digitized at 10 MS/s and averaged over 128 samples in a digital oscilloscope (MDO3024, Tektronix, WA, USA). Finally, we transferred and stored all the measurements in a PC using Python (pyvisa, numpy and matplotlib packages). We applied the fast Fourier transform to the signals acquired and then we analyzed the magnitude and phase spectra. In parallel, we acquired one measurement before placing each burger in the holder as reference.

The spectra were corrected by subtracting their corresponding reference in each case. In the first place, we obtained the time of flight of the ultrasonic signal through the burger (Álvarez-Arenas *et al.*, 2009). In order to do so, we calculated the cross-correlation between the measured ultrasonic signal received before placing the sample in the holder and the measured signal when the sample is conveniently located. Then, we applied the Hilbert

Table 8: Results of proximal analysis

Added Fat (wt. %)	Fat (wt. %)	Moisture (wt. %)
0	15.495	64.0172
20	23.723	48.0448
40	45.310	37.8086
60	68.756	29.4613
80	82.616	14.8210

transform to compute the envelope of the correlation. We got the time of flight (d), from the location of its maximum.

Secondly, as thickness resonances were observed in all burgers spectra, we assumed that the distance between two adjacent maxima ($v/2t$) corresponds to the basic frequency, f_1 ($n=1$) (Graph 6). Finally, according to equations (16) and (17) we obtained the ultrasonic velocity and thickness of the samples in each point measured as follows:

$$v = \frac{t}{\frac{t}{v_{air}} - d} \quad (16)$$

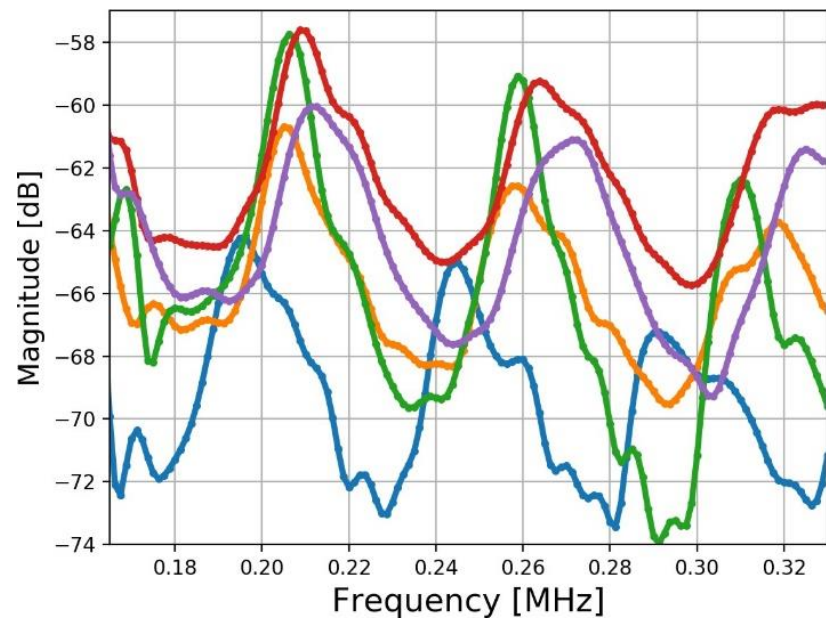
Where v is the ultrasonic velocity as the wave propagates through the sample, t is the thickness, v_{air} is the ultrasonic velocity through the air and d is the time of flight calculated as previously mentioned.

$$f_1 = \frac{nv}{2t}, n = 1 \quad (17)$$

Where f_1 is the fundamental frequency of resonance of the sample. We took 13 ultrasonic measurements in different points of each burger at 5 °C. Afterwards, when the burgers reached 20 °C, we repeated the process. Finally, we performed the analysis explained above.

Textural Analysis

The texture analysis applied in this study was stress-relaxation test as defined by Landahl *et al.* (2009). The analysis was carried out with a texturometer (TA.XT2i, Stable Micro Systems, Surrey, UK) set with a 6 mm diameter of cylindrical probe (SMS P/6, ANAME, Madrid, Spain). We performed the measurements with a compression velocity of 1 mm/s, 25%



Graph 6: Magnitude of the transmission coefficient of 5 different added fatty tissue: blue, 0%; yellow, 20%; green, 40%; red, 60%; purple, 80%.

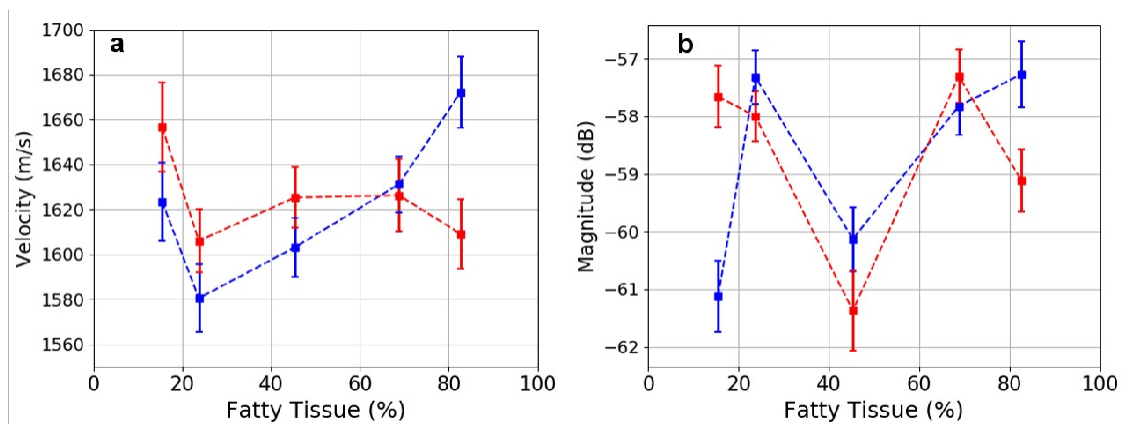
of deformation and relaxation time of 90 seconds. All tests took place inside of a refrigerated storage at 4°C. We halved the burgers and performed 5 tests in different points at 5 °C in one half, and 5 tests in different points in the other half at 20 °C.

RESULTS AND DISCUSSION

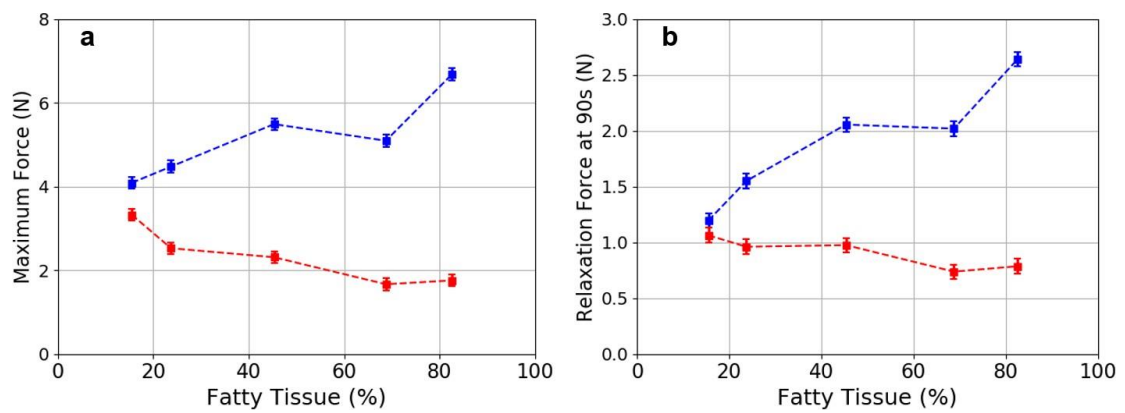
Firstly, the appearance of thickness resonances in pork burger patties is remarkable. Due to this fact, we determined the height of the burger at each point measured with the ultrasonic technique without direct contact with the sample. In other words, the air-coupled ultrasonic technique enables an accurate determination of the ultrasonic velocity contactless, not requiring a priori information about the sample.

Magnitude presents a nonlinear relationship with fatty tissue (Graph 7b). It is worth highlighted that higher differences regarding temperature were observed at 0% and 100% of added fatty tissue, showing opposite behavior: while in 0% higher magnitude was observed at 20 °C reaching -57.7 dB, in 80% higher magnitude was obtained at 5 °C reaching -57.3 dB . Ultrasonic velocity shows higher values at 20 °C than 5 °C until it reaches values of fatty tissue close to 68%, when this tendency changes (Graph 7a). Greater velocities differences between temperatures appeared at 80% of added fatty tissue: 60 m/s. The higher velocity obtained was in 80% of added fatty tissue at 5 °C, while the lower values were obtained in 20% of added fatty tissue at 5 °C.

In the case of textural parameters, maximum compression force varies significantly ($p < 0.05$) with fatty tissue: increases at 5 °C and decreases at 20 °C with values ranging from [4.09 – 6.68] N at 5°C to [1.77 – 3.32] N at 20 °C (Graph 8a). A similar tendency was observed for the relaxation force at 90 s however, the differences between different burger compositions were lower: [2.64 – 1.20] N at 5 °C and [0.79 – 1.06] N at 20 °C (Graph 8b).



Graph 7. Evolution of ultrasonic parameters with fatty tissue and temperature (blue, 5 °C; red, 20 °C): Mean and 95% interval confidence were represented, a) ultrasonic velocity (m/s); b) magnitude of the first resonance peak that appears in the frequency range measured.

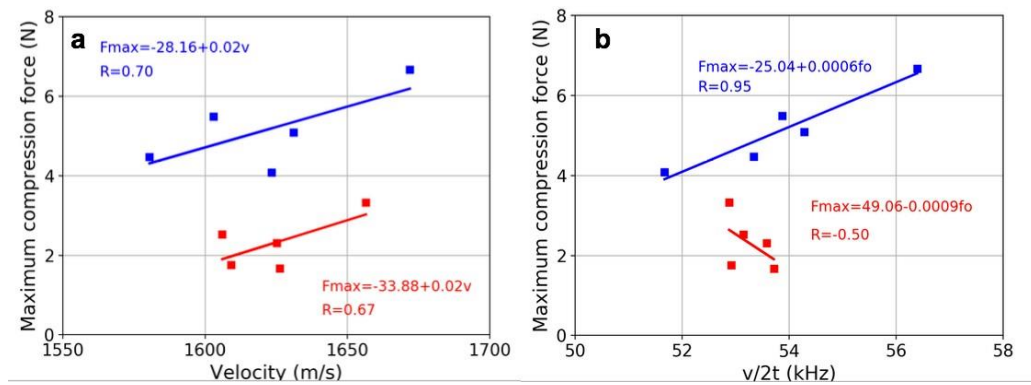


Graph 8: Evolution of textural parameters with fatty tissue and temperature (blue, 5 °C; red, 20 °C): Mean and 95% interval confidence were represented , a) maximum compression force (N); b) relaxation force at 90 s (N).

According to the results, ultrasonic waves showed to be more affected by the inhomogeneities of the handmade patties, as well as a high sensitivity regarding the phases of the two components of the patties: lean and lard. At lower percentages of added fat and 20 °C, lean remains in solid state while fat is turning into liquid, filling the voids created by the lean during the mixing process.

This fact could explain the higher velocity obtained comparing to 5 °C while both phases are solid. From 60% of added fat, the trends of the ultrasonic parameters at different temperatures are reversed. This behavior could be caused by a dominance of the fat composition in the patties: while in the case of 20 °C, the contribution of the semi-liquid state of the fat seemed saturated, at 5 °C is in solid state with a higher bulk modulus than lean, resulting in a higher velocity.

Finally, the better correlations between textural and ultrasonic velocities were found at 5 °C. In the case of distance between adjacent maxima and maximum compression force, the correlation excels in performance ($R=0.95$), while velocity and maximum compression shows more variation ($R=0.70$) (Graph 9a,b).



Graph 9: Correlation between ultrasonic and textural parameters over fatty tissue percentage: each marker represents the corresponding mean values at 0%, 20%, 40%, 60% and 80% of added fatty tissue. Solid lines, represent the linear regression: in blue, at 5 °C; in red, at 20 °C. a) Ultrasonic velocity (m/s) versus maximum compression force (N); b) Distance between adjacent maxima (kHz) versus Maximum compression force (N).

CONCLUSION

Air-coupled ultrasonic technology presents a high potential to be applied in non-destructive testing of meat products. In particular, resonance frequency determination using this contactless and rapid ultrasonic technique is able to predict firmness of the pork burger patties at temperatures properly used in meat industry.

REFERENCES

- Álvarez-Arenas, T. E. G. 2013. Air-coupled piezoelectric transducers with active polypropylene foam matching layers. *Sensors (Switzerland)* 13:5996–6013.
- Álvarez-Arenas, T. G., J. Benedito, and E. Corona. 2009. Non-contact ultrasonic assessment of the properties of vacuum-packaged dry-cured ham. *Proceedings - IEEE Ultrasonics Symposium* 2541–2544.
- Benedito, J., J. A. Carcel, C. Rossello, and A. Mulet. 2001. Composition assessment of raw meat mixtures using ultrasonics. *Meat Science* 57:365–370.
- Landahl, S., M. D. Meyer, and L. A. Terry. 2009. Spatial and temporal analysis of textural and biochemical changes of imported avocado cv. hass during fruit ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57:7039–7047.
- Villamiel, J., J. V. García-Pérez, A. Montilla, J. A. Cárcel, and J. Benedito. 2017. *Ultrasound in Food Processing: Recent Advances*, 1 Ed. Wiley/Blackwell (10.1111), West Sussex.

**CAPÍTULO IV.- ANÁLISIS DE LA MEDICIÓN SIMULTÁNEA DE LA
VELOCIDAD DE FASE ACÚSTICA Y LA RELACIÓN ESFUERZO-
DEFORMACIÓN EN CARNE DE BOVINO: UNA APROXIMACIÓN AL
MÓDULO DE YOUNG**

BY:

SERGIO DIAZ-ALMANZA

En revision en el Journal: Applied Acoustics, Elsevier.

RESUMEN

ANÁLISIS DE LA MEDICIÓN SIMULTÁNEA DE LA VELOCIDAD DE FASE ACÚSTICA Y LA RELACIÓN ESFUERZO-DEFORMACIÓN EN CARNE DE BOVINO: UNA APROXIMACIÓN AL MÓDULO DE YOUNG

POR:

M.C. SERGIO DÍAZ ALMANZA

Doctorado in Philosophia en Producción Animal

Universidad Autónoma de Chihuahua

Facultad de Zootecnia y Ecología

Secretaría de Investigación y Posgrado

Presidente: Iván Adrián García Galicia

El ultrasonido de baja intensidad (UBI) es una herramienta ampliamente utilizada en la ciencia de los alimentos, principalmente como un sistema para evaluación. Sin embargo, múltiples condiciones durante su uso pueden afectar la precisión de las mediciones. La naturaleza y la deformación pueden modificar los resultados de los valores de la velocidad de fase acústica (VFA). No hay información precisa de como la deformación de la muestra puede afectar las mediciones. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de la deformación de la muestra (%), el músculo (*Longissimus thoracis*, LT; *Longissimus lumborum*, LL y *Psoas major*, PM) y la aplicación de ultrasonido de alta intensidad (UAI, 0 o 90 W/cm²) sobre las mediciones de la velocidad de fase acústica (c) [m/s]. Los factores principales afectaron significativamente ($P < 0.05$) a UBI-VFA sin efectos de interacción. La VFA está relacionada con la textura, los

músculos considerados suaves resultaron en una velocidad de fase menor. Sin embargo, se observa una mejor relación con la impedancia acústica característica (Z) y el esfuerzo. Adicionalmente, el pretratamiento de UAI resultó en una disminución de UBI-VFA de $\cong 41.6$ m/s. Por último, la deformación de la muestra afectó las mediciones de UBI con una tendencia inversa, en donde los valores menores de UBI-VFA se encontraron a una deformación del 40% con una disminución de un 10% en VFA $\cong 149$ m/s. Las condiciones de contacto de UBI deben ser estandarizadas en un nivel en donde se desplace el aire en el acople muestra-sensor ultrasónico, sin causar un daño irreversible a la muestra cárnica.

ABSTRACT

ANALYSIS OF THE SIMULTANEOUS MEASUREMENT OF ACOUSTIC PHASE VELOCITY AND STRESS-STRAIN RELATIONSHIP IN BEEF: AN APPROACH TO YOUNG'S MODULE

BY:

M.C. SERGIO DÍAZ ALMANZA

Low intensity ultrasound (LIU) is a widely technology use in food science, mainly as a tool for evaluation. However, multiple conditions during its use may affect the accuracy of the lectures. Nature and deformation of samples may modify results of ultrasonic phase velocity values. There is no precise information of how sample deformation could affect lectures. The aim of this research was to determine the effect of sample deformation (%), muscle (*Longissimus thoracis*, LT; *Longissimus lumborum*, LL and *Psoas major*, PM) and high intensity ultrasound (HIU, 0 or 90 W/cm²) application on LIU phase velocity (c) measures. Main factors significantly ($P < 0.05$) affected LIU phase velocity without interaction effect. Ultrasonic phase velocity is related to meat texture, muscles considered as tender resulted in lower phase velocity. However, a better relation was observed with acoustic characteristic impedance (Z) and stress. Additionally, HIU pretreatment resulted in LIU phase velocity decrease of ~41.6m/s. Finally, sample deformation affected LIU measures with an inverse trend, the lowest LIU phase velocity values were found at 40% sample deformation with a 10% c decrease (~149m/s). LIU contact conditions should be standardized in a level where air in the sample-probe coupling can be displaced, without causing irreversible damage to meat sample.

INTRODUCTION

El UBI consiste en la monitorización de la propagación de una onda ultrasónica a través de un medio para la obtención de parámetros como: velocidad de fase ultrasónica (c) [m/s], coeficiente de atenuación (α) [dB/mm] e impedancia acústica característica (Z) [MRayls]. UBI es una herramienta no destructiva con intensidades menores a 1 W/cm^2 y frecuencias mayores a 1 MHz, UBI puede ser automatizado y permite mediciones en tiempo real (Morse y Ingard, 1968; Duck, 1990; Nayfeh, 1995; Kinsler *et al.*, 2000; Ensminger y Bond, 2012; Rossing, 2014).

UBI ha sido utilizado para la evaluación de una amplia variedad de alimentos como: manzana, masa para pasteles y fideos, miel, carne y productos cárnicos como jamón, sobrassada y carne molida (McClements y Sundaram, 1997; Benedito *et al.*, 2001; Llull *et al.*, 2002a; Gómez *et al.*, 2008; Cereser Camara y Laux, 2010; Telis-Romero *et al.*, 2011; Fulladosa *et al.*, 2015; Khairi *et al.*, 2015; Vasighi-Shojae *et al.*, 2018; Kerhervé *et al.*, 2019). Las investigaciones de UBI en carne y productos cárnicos son generalmente enfocadas en la predicción de textura y de composición (Benedito *et al.*, 2001; Llull *et al.*, 2002a, 2002b; Corona *et al.*, 2013a; Akdag *et al.*, 2015; Nowak *et al.*, 2016; Kvam y Kongsro, 2017; Ludwiczak *et al.*, 2017). Sin embargo, las condiciones de acople del UBI incluyendo el estrés y la deformación pueden afectar las mediciones. Se ha reportado una relación proporcional de la velocidad de fase ultrasónica con la raíz cuadrada de la dureza, describiendo la textura satisfactoriamente (Llull *et al.*, 2002a; Corona *et al.*, 2013a).

Las investigaciones de UAI aplicado en carne son enfocadas generalmente a la descontaminación o al ablandamiento (Barekat y Soltanizadeh, 2017; Kang *et al.*, 2017; Diaz-Almanza *et al.*, 2019), en donde la cavitación acústica puede liberar energía al medio por ondas de choque, dañando el material expuesto (van Wijngaarden, 2016). La implosión de las burbujas de cavitación acústica también genera altos cambios de presión y temperatura formando microchorros que al impactar cerca de la superficie del material causan daño a micro o macro escala (Suslick, 1990; Flint y Suslick, 1991; Leighton, 1994; McNamara *et al.*, 1999; Suslick y Flannigan, 2008).

Las propiedades ultrasónicas incluyen atenuación, impedancia acústica características y velocidad de fase acústica y tienen uso potencial para la caracterización de alimentos. La velocidad de fase ultrasónica es la más utilizada ya que las otras propiedades acústicas no dan información relevante o su desarrollo es muy complicado, causando alta variabilidad en los valores (Khairi *et al.*, 2015; García-Pérez *et al.*, 2017).

Las propiedades acústicas pueden ser afectadas por algunas condiciones de medición como frecuencia, temperatura y composición (Koch *et al.*, 2011a, 2011b; Nowak *et al.*, 2016; Kerhervé *et al.*, 2019). En muestras cárnicas el incremento en la temperatura de la grasa causa una disminución de la velocidad de fase ultrasónica en aproximadamente 5.6 m/s °C. Mientras que en carne magra, cuyo principal comportamiento es influenciado por el contenido de agua, un incremento de la temperatura causa un aumento de la velocidad de fase ultrasónica en aproximadamente 2.3 m/s °C (Benedito *et al.*, 2001).

Considerando la dependencia a la temperatura de la velocidad de fase ultrasónica, es importante fijar una temperatura para todas las muestras para evitar variación y errores de medición.

Al igual que la temperatura, la interacción física del esfuerzo de la muestra y el sensor ultrasónico puede afectar la medición de los parámetros acústicos. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es determinar el efecto de la deformación por el sensor ultrasónico, el pretratamiento de UAI y la naturaleza de las muestras cárnicas sobre VFA. Hasta ahora no se ha encontrado literatura publicada de esta metodología.

ANTECEDENTES

El ultrasonido puede ser dividido en UBI y UAI y son usados para caracterización y modificación, respectivamente. El primer uso del ultrasonido en la ciencia de la carne fue para caracterización de propiedades ultrasónicas. Después, fue utilizado en ganado *in vivo* para estimación de grosor de grasa subcutánea utilizando imagen por UBI. Han surgido distintos propósitos del UBI desde entonces. El Cuadro 9 resume las investigaciones enfocadas en UBI en ciencia de la carne. En la mayoría de la literatura publicada no se especifica el estrés aplicado ni la deformación de la muestra.

Cuadro 9.- Ultrasonido de baja intensidad en investigaciones de muestras cárnicas, usando velocidad de fase ultrasónica (c), coeficiente de atenuación (α), impedancia acústica característica (Z) o análisis de imagen (AI)

Muestra Músculos de Bovino	Condiciones Transmisión	Medición c, Z	Enfoque de la investigación Valores de c entre 1575 y 1585 m/s sin diferencia significativa con la dirección de la fibra y un valor de Z de $1.68-1.69 \times 10^5 \text{ g/cm}^2\text{s}$	Referencia (Ludwig, 1950)
Bovino <i>in vivo</i>	Reflexión	AI	Estimación de grosor de grasa subcutánea	(Temple <i>et al.</i> , 1956)
Bovino y porcino <i>in vivo</i>	Reflexión	AI	Estimación de grosor de grasa y del área del ojo de la costilla	(Stouffer <i>et al.</i> , 1961)
Bovino <i>in vivo</i>	Reflexión	AI	Estimación de área muscular y grasa subcutánea	(Bech Andersen, 1975)
Mezclas cárnicas de cerdo	Transmisión	c	Estimación de composición y dependencia de temperatura	(Benedito <i>et al.</i> , 2001)
Sobrassada	Transmisión	c	Relación de c con la raíz cuadrada de la dureza	(Llull <i>et al.</i> , 2002b)
Pechuga de pollo	Transmisión	c, α	Detección de objetos extraños	(Cho y Irudayaraj, 2003)
Bovino M. <i>Biceps femoris</i>	Transmisión y reflexión	c, α	Monitoreo de cambios mecánicos durante el rigor mortis y maduración	(Ayadi <i>et al.</i> , 2007)
Pechuga de pollo	Reflexión	c, Z, α	Detección de fragmentos de hueso	(Correia <i>et al.</i> , 2008)
Porcino	Reflexión	c, α	Estimación de grasa intramuscular por α	(Koch <i>et al.</i> , 2011b)
Porcino	Transmisión	c	Variación de c por método de determinación de c	(Nowak y Markowski, 2013)
Jamón curado seco y chorizo	Reflexión, SAM, contacto y sin contacto	c, pérdidas por inserción	Resultados similares por contacto y sin contacto. Identificación de distribución de tejido magro y graso por SAM	(Corona <i>et al.</i> , 2013b)
Jamón ibérico	Transmisión	c	Estimación de cambios de textura producidos por almacenamiento en frío y tratamiento de altas presiones	(Corona <i>et al.</i> , 2013a)
Bovino <i>in vivo</i>	Reflexión	c	Estimación de composición	(Peña <i>et al.</i> , 2014)
Ovino <i>in vivo</i>	Reflexión	AI	Estimación de composición de canal	(Akdag <i>et al.</i> , 2015)
Porcino	Transmisión	c	Estimación de contenido de sal posterior al marinado, aumento de c al aumentar ganancia de sal	(De Prados <i>et al.</i> , 2015a)

Jamón	Transmisión	c	Estimación de contenido de grasa, incremento de c al aumentar contenido de grasa a 2 °C	(De Prados <i>et al.</i> , 2015b)
Jamón curado seco	Transmisión	c	Clasificación de jamón en tres categorías de sal y de grasa	(Fulladosa <i>et al.</i> , 2015)
Productos cárnicos de porcino	Transmisión, Reflexión	c	Estimación de contenido de sal, la sal incrementa los valores de c	(García-Pérez <i>et al.</i> , 2015)
Ovino <i>in vivo</i>	Reflexión	AI	Estimación de composición de la canal	(Grill <i>et al.</i> , 2015)
Productos cárnicos de porcino	Transmisión	c	medición en línea durante el salado, estimación de contenido de sal, incremento de c al aumentar contenido de sal	(De Prados <i>et al.</i> , 2016)
Productos cárnicos de porcino	Transmisión	c, Z	Estimación mejorada de composición proximal por el método velocidad-densidad	(Nowak <i>et al.</i> , 2016)
Porcino <i>in vivo</i>	Reflexión	AI	Predicción de grasa intramuscular por red neuronal convolucional profunda	(Kvam y Kongsro, 2017)
Caprino <i>in vivo</i>	Reflexión	AI	Estimación de canal	(Lazar <i>et al.</i> , 2017)
Porcino	Reflexión	AI	Estimación de marmoleo	(Ludwiczak <i>et al.</i> , 2017)

SAM= Microscopía de escaneo acústico

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima y Preparación de la Muestra

Los análisis se realizaron en tres diferentes músculos de bovino (*Longissimus lumborum*, *Longissimus thoracis* y *Psoas major*) 24 horas *postmortem*. Estos músculos son parte de los cortes con mayor valor en la industria. Adicionalmente, *Psoas major* es el músculo de mayor ternura (Figura 9). Todos los músculos fueron adquiridos del expendio universitario. Los músculos provenían de novillos Hereford x Angus de dos años, los cuales pastaban hierba nativa hasta los 18 meses, fueron suplementados por 2 meses y finalizaron en interiores los últimos cuatro meses. Los animales fueron sacrificados bajo las regulaciones de la Inspección Federal Nacional en un matadero federal. 24 horas *postmortem* las canales fueron transportadas al complejo de carne universitario. Fueron obtenidos cuatro filetes de 25 mm de grosor de cada músculo, de forma perpendicular a la orientación de las fibras musculares. Fueron cortadas muestras de 30 x 30 x 25 mm utilizando un cuchillo filoso (4 muestras por filete). El diseño experimental consiste en ocho tratamientos por músculo. Las muestras fueron asignadas aleatoriamente a las intensidades de UAI antes de las mediciones por UBI. El pretratamiento por UAI (Frecuencia = 37 kHz, Intensidad = 90 W/cm²) consiste en la inmersión de la muestra sin empaque en el baño ultrasónico (Elmasonic S 60 H, Alemania) con 1 L de agua destilada por 40 min y volteado a la mitad del tiempo para asegurar que ambos lados tengan una exposición uniforme a las ondas ultrasónicas.

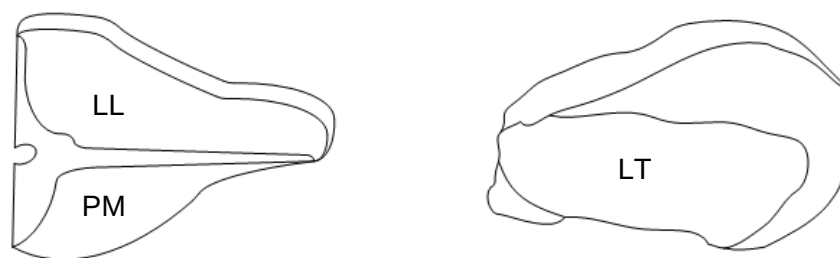


Figura 9. Músculos de bovino (*Psoas major*, PM; *Longissimus lumborum*, LL y *Longissimus thoracis*, LT) usados en esta investigación de los cortes comerciales T-bone y rib eye.

La temperatura al interior del baño ultrasónico fue controlado a 4 °C con un refrigerante de inmersión (Julabo FT 200, Alemania).

Arreglo Experimental

El arreglo experimental se muestra en la figura 10. El arreglo consiste en el generador de pulsos (Gampt GS 200, Alemania) conectado a un osciloscopio (Tektronix TBS 1102B-EDU, China) y el osciloscopio a una computadora para la recolección y análisis de datos. Un sensor ultrasónico fue acoplado al brazo de un texturómetro (TA XT Plus, Reino Unido) y el texturómetro fue conectado a la computadora permitiendo el registro simultaneo del grosor de la muestra, porcentaje de compresión, esfuerzo de compresión y la señal ultrasónica. El texturómetro fue calibrado de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Análisis de Esfuerzo

Las muestras cárnicas se colocaron en el texturómetro y fueron comprimidas con el sensor ultrasónico a 10, 20, 30 y 40% de deformación uniaxial (Figura 11). El esfuerzo de compresión fue registrado como la fuerza necesaria para alcanzar la deformación objetivo de la muestra, el esfuerzo fue calculado mediante la división de fuerza sobre el área.

Velocidad de Fase Acústica

La adquisición de la señal de UBI modo A consiste en un ecoscopio ultrasónico (Gampt GS 200, Alemania) con una señal de emisión ultrasónica de pulso cuadrado usado como generador de pulsos y conectado a un osciloscopio

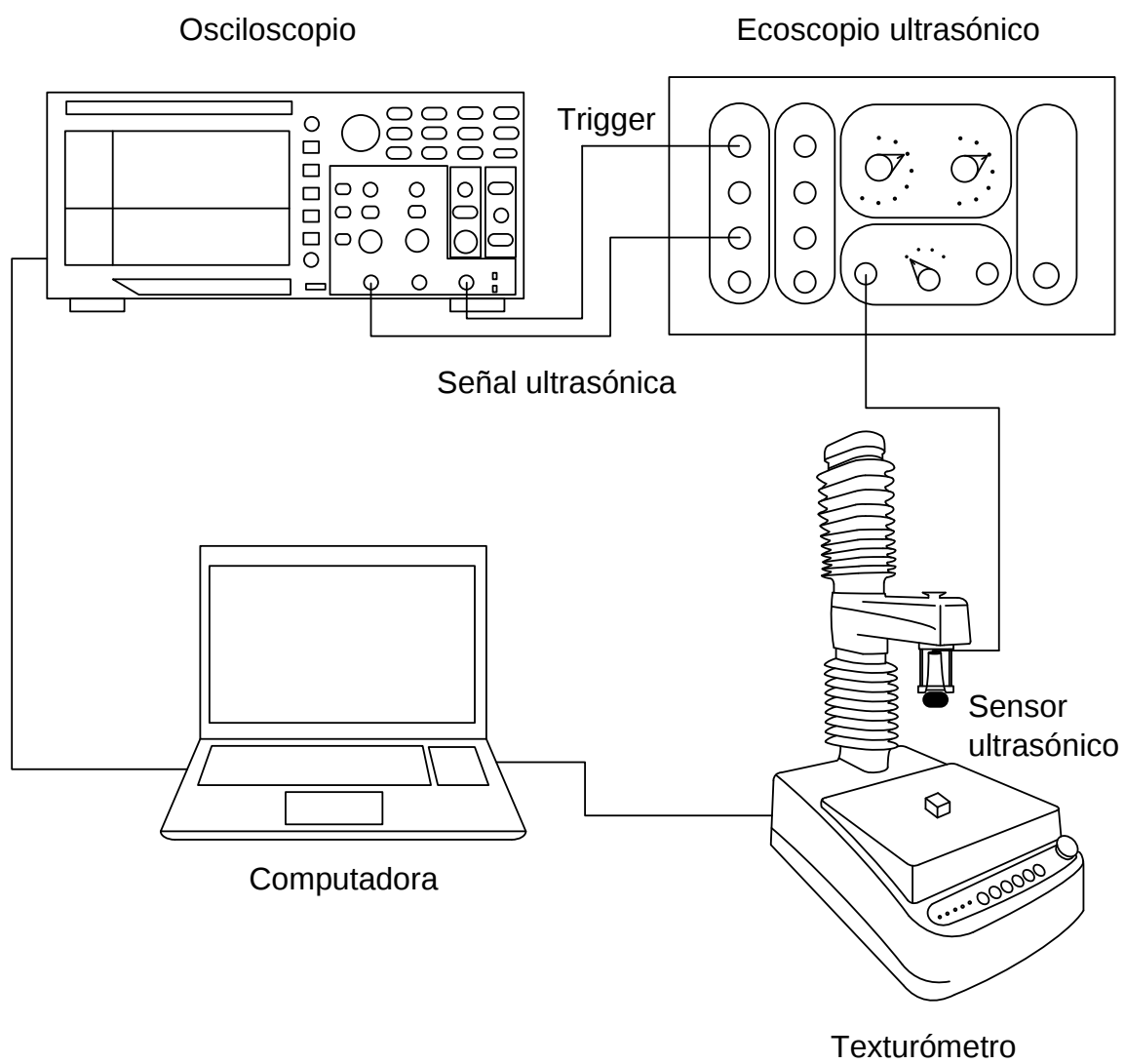


Figura 10. Arreglo experimental para la medición de muestras cárnicas.

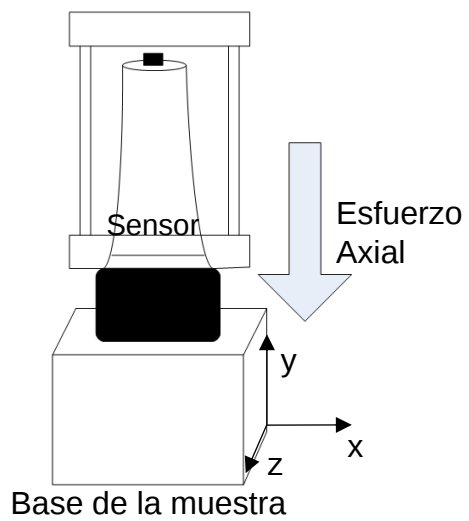


Figura 11. Compresión de la muestra con el sensor ultrasónico acoplado al texturómetro.

(Tektronix TBS 1102B-EDU, China) con conexiones BNC. El osciloscopio fue conectado a la computadora por USB- La operación de medición se condujo por técnica de reflexión, con un sensor ultrasónico de 2 MHz (27 mm de diámetro, Gampt, Alemania). Se adquirió la señal ultrasónica modo A. El retraso del tiempo fue considerado antes del cálculo de VFA. La VFA fue calculada por la división de dos veces el grosor de la muestra sobre el tiempo de vuelo. Todas las mediciones fueron realizadas a temperatura constante de 21 °C. Adicionalmente, la impedancia acústica característica (Z) [Rayls] fue calculada mediante la multiplicación de la VFA y la muestra.

Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados por un arreglo al azar con arreglo factorial 2 x 4 x 3 (2 intensidades de UAI, 4 deformaciones y 3 músculos). Los efectos principales y las interacciones de las mediciones ultrasónicas fueron analizados mediante el modelo lineal general (Ecuación 18) (Stroup *et al.*, 2018). Se realizaron pruebas de Tukey para evaluar diferencias significativas entre muestras ($\alpha=0.05$) (SAS 9, 2002).

$$Y_{ijkl} = \mu_{ijkl} + M_i + U_j + D_k + MD_{ik} + e_{ijkl} \quad (18)$$

Donde:

Y_{ijkl} . Es la respuesta

μ_{ijkl} . Es el efecto de la media

M_i . Es el efecto del i-ésimo músculo

U_j . Es el efecto del j-ésimo tratamiento de UAI

D_k . Es el efecto de la k-ésima deformación

MD_{ik} . Es el efecto de la interacción musculo-deformación

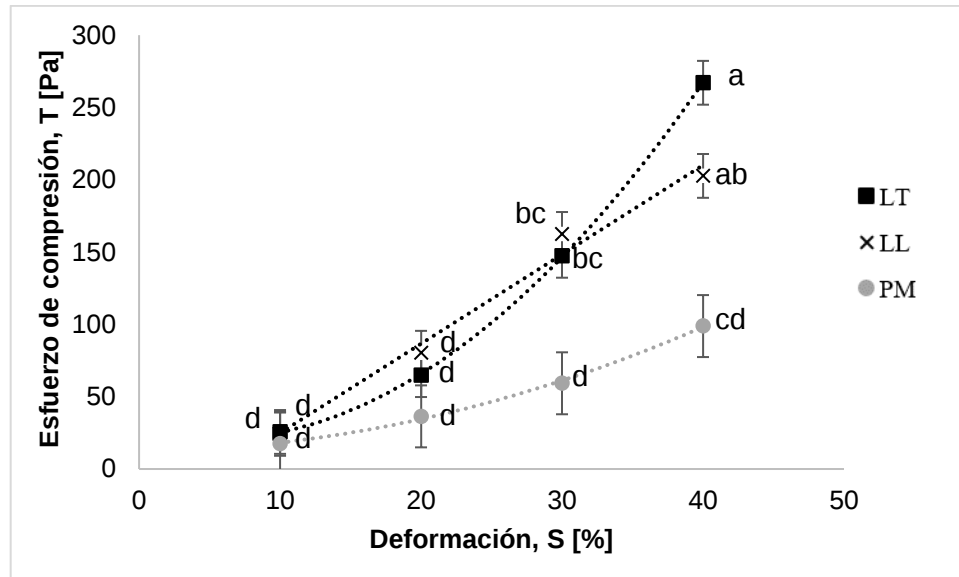
e_{ijkl} . Es el error

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ambas variables de respuesta presentadas en esta investigación están fuertemente relacionadas a las propiedades mecánicas de la muestra. El esfuerzo da una idea de la textura de la muestra, mientras que la textura depende de las propiedades mecánicas de la muestra, así como la relación esfuerzo-deformación. Las propiedades elásticas de la carne dependen de su composición, propiedades a micro escala como enlaces moleculares así como de la estructura a macro escala (Ophir *et al.*, 2002; Bourne, 2003). Tomando esto en cuenta, el esfuerzo podría ayudar a una mejor comprensión de las variables independientes sobre *c*. Por esta razón, la siguiente sección está organizada describiendo primeramente el esfuerzo de compresión y después la velocidad de fase ultrasónica para una mejor lectura y comprensión.

Esfuerzo de la Muestra

El músculo y la deformación de la muestra tuvieron un efecto significativo ($P < 0.05$) en el esfuerzo. La preaplicación de UAI no tuvo un efecto significativo ($P > 0.05$) sobre el esfuerzo. La Gráfica 10 muestra el comportamiento del esfuerzo para cada músculo y porcentaje de deformación. Se observa una tendencia similar entre músculos. Es necesario mayor esfuerzo para lograr una mayor deformación. Sin embargo, las pequeñas diferencias en las líneas de tendencia entre músculos se pueden atribuir a las propiedades elásticas características de cada músculo. Las propiedades de textura varían entre músculos, un factor importante que afecta la textura es el tipo y la cantidad de

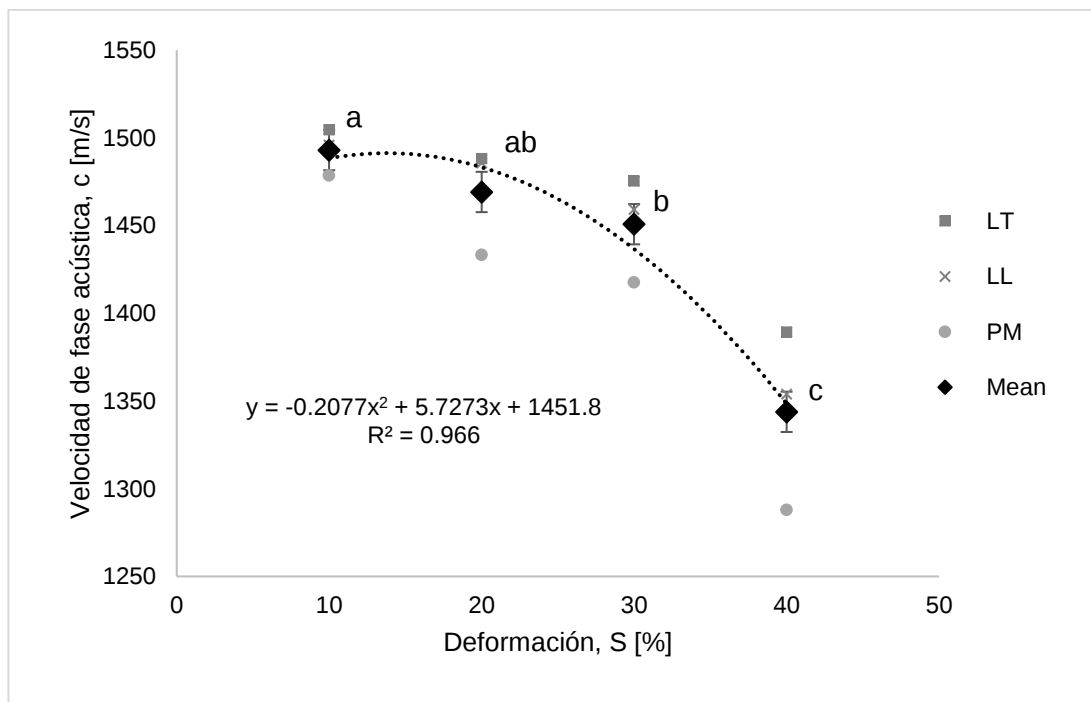


Gráfica 10. Esfuerzo requerido ($\pm$ E.E.) para deformar (en porcentaje) distintos músculos (*Longissimus thoracis*, LT; *Longissimus lumborum*, LL; y *Psoas major*, PM). Distintas letras indican diferencias significativas ($P<0.05$).

colágeno presente en el músculo (*i.e.* mayor contenido de colágeno, mayor dureza de la carne dentro de la misma canal). El módulo elástico del colágeno varía desde 0.5 a 1 GPa, contribuyendo a la rigidez, ya que la composición de la carne puede tener colágeno presente desde 1.5 hasta 10% en peso seco (Lepetit, 2008). PM es considerado el músculo de mayor terniza de la canal, mientras que LL es considerado músculo de textura media y LT de mayor dureza que LL pero aún considerado de textura media (Sullivan y Calkins, 2011). En este sentido se puede esperar que PM necesite menor esfuerzo para alcanzar una determinada deformación. Por el contrario, la mayor diferencia de esfuerzo se observa al 40% de deformación, en donde LT presentó el mayor esfuerzo, seguido de LL y PM presentó el menor valor. La rigidez de cada músculo causó la diferencia de esfuerzo llevando a la interacción de músculo y deformación.

Velocidad de Fase Acústica

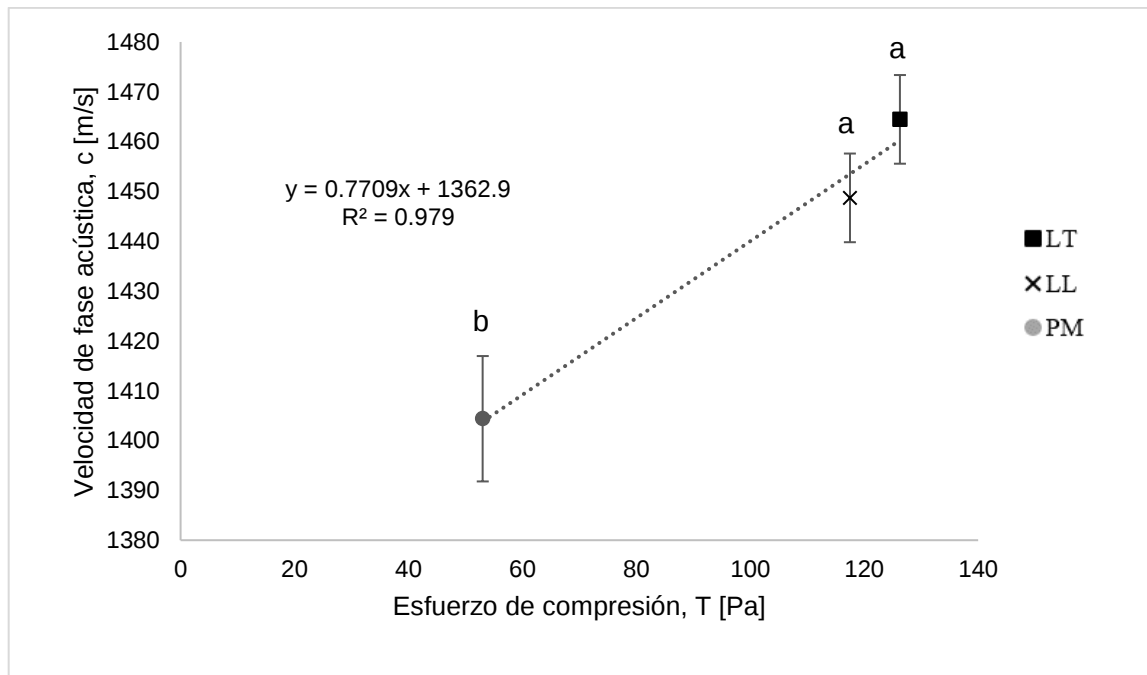
La VFA fue afectada significativamente ($P < 0.05$) por los factores principales (deformación, músculo y pretratamiento de UAI). No se detectó interacción ($P > 0.05$). El efecto de la deformación de la muestra sobre VFA se muestra en la Gráfica 11. El incremento de la deformación de la muestra causó un aumento del esfuerzo y una reducción de la VFA. La reducción de la VFA puede ser atribuida al incremento del esfuerzo por el sensor ultrasónico, causando una compactación que puede ser lo suficientemente alta para la modificación de la muestra, excediendo el límite elástico y causando cambios irreversibles en la estructura de la carne.



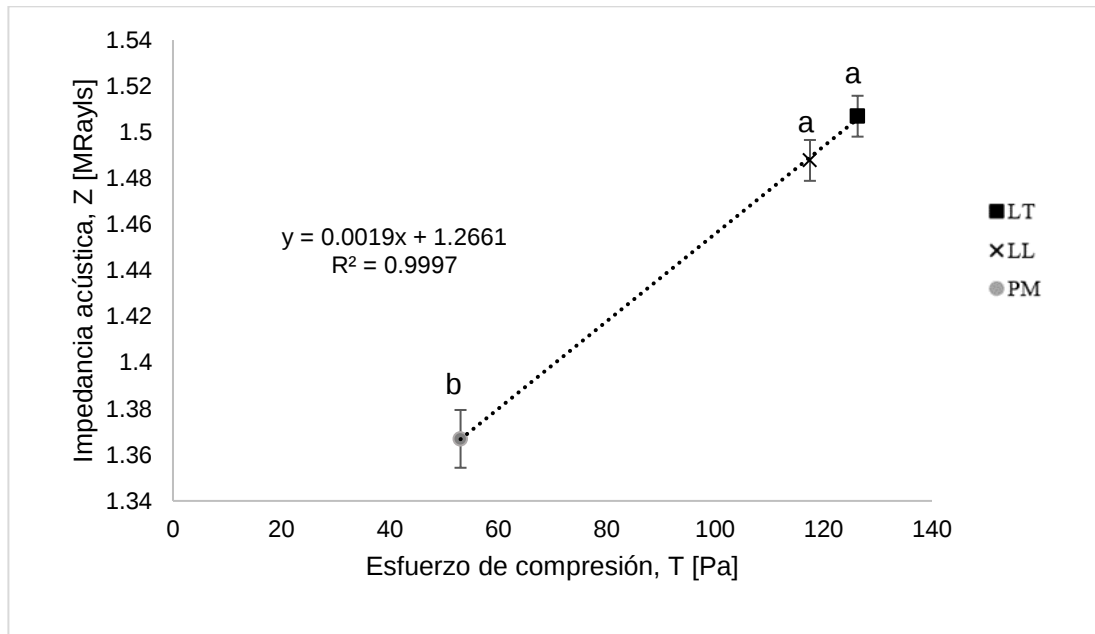
Gráfica 11. Efecto de la deformación sobre la velocidad de fase acústica de muestras de carne ($\pm$ E.E.). Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

El efecto de los músculos sobre la VFA se muestra en la Gráfica 12. La diferencia entre músculos afectó significativamente ($P < 0.05$) la VFA. Se ha reportado un incremento proporcional de la VFA con la raíz cuadrada de la dureza de productos cárnicos. Llull *et al.* (2002a) encontró un incremento de 15.23 m/s cada $1 \text{ N}^{0.5}$ de incremento de dureza en sobrasada. Corona *et al.* (2013) encontró un incremento de 164 m/s y 178 m/s cada $1 \text{ N}^{0.5}$ de incremento en fuerza máxima de penetración para jamón ibérico curado seco de Punta y Babilla, respectivamente. La Gráfica 12 muestra que la VFA está altamente relacionada con las propiedades de textura de la carne, en donde se observa un incremento de 0.77 m/s cada Pa de esfuerzo, correspondiente a 336.6 m/s cada N de fuerza de compresión. Esta relación de VFA con la textura puede ser utilizada para la estimación de textura en carne. Considerando las propiedades de rigidez de cada músculo, era de esperarse que LT tuviera los mayores valores de VFA, seguido de LL y finalmente PM. Las propiedades de textura de la carne así como la VFA dependen de su composición, resultando en valores mayores de VFA en carne de mayor dureza (Corona *et al.*, 2013a).

La Gráfica 13 muestra una relación lineal de la Z y el esfuerzo, con un coeficiente de determinación de 0.99, con valores de Z mayores cuando fue necesario mayor esfuerzo para deformar la muestra. El esfuerzo de compresión da información de resistencia mecánica para la deformación de la carne, mientras que Z da información de la resistencia de la carne a la propagación de las ondas acústicas (Duck, 1990; Kinsler *et al.*, 2000; Ensminger y Bond, 2012; Rossing, 2014; Khairi *et al.*, 2015). Z podría ser utilizado para una mejor estimación de textura comparado con la VFA



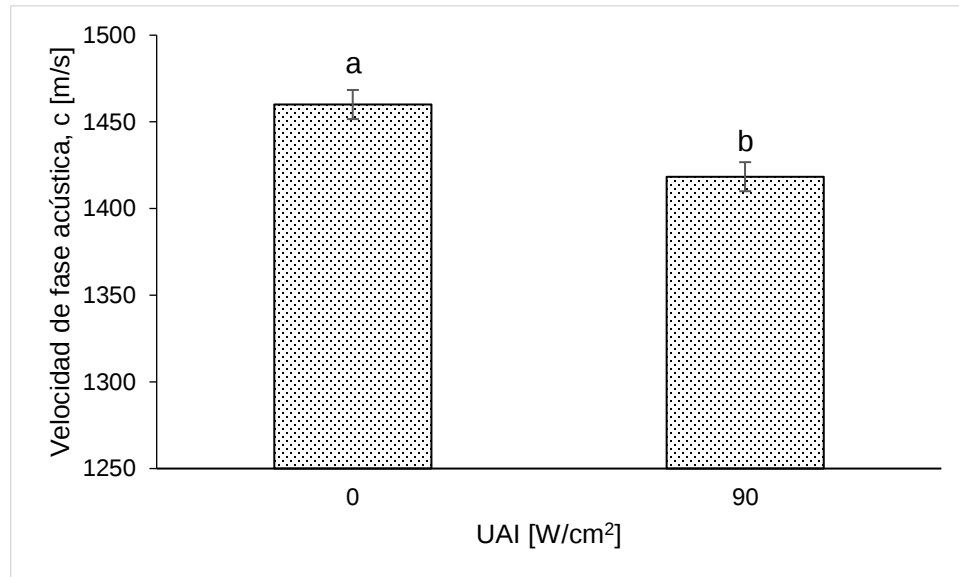
Gráfica 12. La velocidad de fase acústica ($\pm$ E.E.) es afectada por distintos músculos (*Longissimus thoracis* (LT), *Longissimus lumborum* (LL) y *Psoas major* (PM)). Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).



Gráfica 13. La impedancia acústica característica ($\pm$ E.E.) es afectada por distintos músculos (*Longissimus thoracis* (LT), *Longissimus lumborum* (LL) y *Psoas major* (PM)) y se correlaciona con el esfuerzo. Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

El pretratamiento de UAI afectó significativamente ($P < 0.05$) la VFA (Gráfica 14). La VFA está fuertemente relacionada con las propiedades de textura. No se observó una reducción significativa ($P > 0.05$) en el esfuerzo de compresión con el pretratamiento de UAI. Sin embargo, la reducción de la VFA puede ser atribuida a alteraciones estructurales en la carne por la cavitación acústica, con una alteración de las propiedades mecánicas (Chang *et al.*, 2015; Carrillo-Lopez *et al.*, 2017; Kang *et al.*, 2017; Diaz-Almanza *et al.*, 2019). Una reducción del módulo elástico, puede ser promovido por la disrupción de proteínas miofibrilares y la fragmentación de macromoléculas de colágeno por cavitación acústica (Carrillo-Lopez *et al.*, 2017), el UAI también puede causar proteólisis de desmina y troponina-T, oxidación de miosina y polimerización lo que promueve el ablandamiento y la retención de agua (Kang *et al.*, 2017). Estos efectos pueden reducir la VFA, ya que se ha reportado una influencia de las propiedades mecánicas de los productos cárnicos y el contenido de agua en la VFA, disminuyendo la VFA al aumentar el contenido de agua (Llull *et al.*, 2002a).

Dependiendo de las condiciones de tratamiento como tiempo e intensidad de UAI es el grado de efecto de la muestra ultrasonificada. Distintas metodologías se han utilizado para observar el efecto del UAI en carne incluyendo microscopía. La Gráfica 14 muestra que el UAI afecta las propiedades ultrasónicas de la muestra de carne y se puede deducir que se logra una modificación interna. El UBI es una herramienta que puede ayudar a estimar el daño por UAI en muestras de carne. Sin embargo, son necesarias investigaciones futuras para evaluar el potencial de UBI para detectar el efecto de UAI en la carne.



Gráfica 14. Efecto del pretratamiento de ultrasonido de alta intensidad sobre la velocidad de fase acústica ($\pm$ E.E.). Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

CONCLUSIÓN

El UBI es una herramienta alternativa capaz de detectar características de alimentos. Sin embargo, es tan sensible que pequeñas diferencias en las condiciones de los análisis puede generar variación en las mediciones. Fue necesario mayor esfuerzo de compresión para lograr mayores deformaciones de la muestra, el incremento fue mayor en muestras de mayor dureza ($LT > LL > PM$). Las mediciones de UBI fueron afectadas por el tipo de músculo, la VFA esta proporcionalmente relacionada con las propiedades de textura resultando en mayor VFA en carne de mayor dureza. Sin embargo, la impedancia acústica característica describe de mejor manera la relación acústica con textura. El pretratamiento de UAI causó una disminución de la VFA a comparación con las muestras sin tratamiento de UAI, promovido por los efectos físicos de la cavitación acústica. La medición por UBI fue afectada por las condiciones de deformación en el acople. Un aumento en la deformación causó una tendencia decreciente en la VFA, esta disminución puede ser consecuencia de cambios estructurales irreversibles en la muestra.

LITERATURA CITADA

- Akdag, F., B. Teke, Y. Meral, S. Arslan, y M. Ugurlu. 2015. Prediction of carcass composition by ultrasonic measurement and the effect of region and age on ultrasonic measurements. *Small Rumin. Res.* 133:82–87.
- Ayadi, A., J. Culioli, y S. Abouelkaram. 2007. Sonoelasticity to monitor mechanical changes during rigor and ageing. *Meat Sci.* 76:321–326.
- Barekat, S., y N. Soltanizadeh. 2017. Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 39:223–229.
- Bech Andersen, B. 1975. Recent experimental development in ultrasonic measurement of cattle. *Livest. Prod. Sci.* 2:137–146.
- Benedito, J., J. A. Carcel, C. Rossello, y A. Mulet. 2001. Composition assessment of raw meat mixtures using ultrasonics. *Meat Sci.* 57:365–370.
- Bourne, M. C. 2003. *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*, 2 Ed. Academic Press, USA.
- Carrillo-Lopez, L. M., A. D. Alarcon-Rojo, L. Luna-Rodriguez, y R. Reyes-Villagrana. 2017. Modification of Food Systems by Ultrasound. *J. Food Qual.* 2017:1–12.
- Cereser Camara, V., y D. Laux. 2010. Moisture content in honey determination with a shear ultrasonic reflectometer. *J. Food Eng.* 96:93–96.
- Chang, H. J., 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.
- Cho, B. K., y J. M. K. Irudayaraj. 2003. Foreign object and internal disorder detection in food materials using noncontact ultrasound imaging. *J. Food Sci.* 68:967–974.
- Corona, E., J. V. García-Pérez, A. Mulet, y J. Benedito. 2013a. Ultrasonic assessment of textural changes in vacuum packaged sliced Iberian ham induced by high pressure treatment or cold storage. *Meat Sci.* 95:389–395.
- Corona, E., J. V. Garcia-Perez, T. E. Gomez Alvarez-Arenas, N. Watson, M. J. W. Povey, y J. Benedito. 2013b. Advances in the ultrasound characterization of dry-cured meat products. *J. Food Eng.*
- Correia, L. R., G. S. Mittal, y O. A. Basir. 2008. Ultrasonic detection of bone fragment in mechanically deboned chicken breasts. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9:109–115.

- Díaz-Almanza, S., R. Reyes-Villagrana, A. D. Alarcon-Rojo, M. Huerta-Jimenez, L. M. Carrillo-Lopez, C. Estepp, J. Urbina-Perez, y I. A. Garcia-Galicia. 2019. Time matters when ultrasonicated beef: The best time for tenderness is not the best for reducing microbial counts. *J. Food Process Eng.* 42.
- Duck, F. 1990. *Physical Properties of Tissue: A Comprehensive Reference Book*, 1 Edición. Academic Press, San Diego, CA, 73–135.
- Ensminger, D., y L. J. Bond. 2012. *Ultrasonics, Fundamental, Technologies, and Applications*, 3 Ed. CRC Press. Taylor & Francis Group, Boca Raton-FL.
- Flint, E. B., y K. S. Suslick. 1991. The Temperature of Cavitation T. *Science* 80:1397–1399.
- Fulladosa, E., M. De Prados, J. V. García-Perez, J. Benedito, I. Muñoz, J. Arnau, y P. Gou. 2015. X-ray absorptiometry and ultrasound technologies for non-destructive compositional analysis of dry-cured ham. *J. Food Eng.* 155:62–68.
- García-Pérez, J. V., M. De Prados, y J. Benedito. 2017. Characterization of Pork Meat Products using Ultrasound. 86–114 En *Ultrasound in Food Processing*. John Wiley & Sons, Ltd.
- García-Pérez, J. V., M. De Prados, G. Martínez-Escrivá, R. González, A. Mulet, y J. Benedito. 2015. Exploring the use of Low-intensity Ultrasonics as a Tool for Assessing the Salt Content in Pork Meat Products. *Phys. Procedia* 70:837–840.
- Gómez, M., B. Oliete, J. García-Álvarez, F. Ronda, y J. Salazar. 2008. Characterization of cake batters by ultrasound measurements. *J. Food Eng.* 89:408–413.
- Grill, L., F. Ringdorfer, R. Baumung, y B. Fuerst-Waltl. 2015. Evaluation of ultrasound scanning to predict carcass composition of Austrian meat sheep. *Small Rumin. Res.* 123:260–268.
- Kang, D., X. Gao, Q. Ge, G. Zhou, y W. Zhang. 2017. Effects of ultrasound on the beef structure and water distribution during curing through protein degradation and modification. *Ultrason. Sonochem.* 38:317–325.
- Kerhervé, S. O., R. M. Guillermic, A. Strybulevych, D. W. Hatcher, M. G. Scanlon, y J. H. Page. 2019. Online non-contact quality control of noodle dough using ultrasound. *Food Control* 104:349–357.
- Khairi, M. T. M., S. Ibrahim, M. A. M. Yunus, y M. Faramarzi. 2015. Contact and Non-contact of ultrasonic measurement in food industry: A review. *Meas. Sci. Technol.* 27:12001.
- Kinsler, L., A. Frey, A. Coppers, y J. Sanders. 2000. *Fundamentals of Acoustics*,

Fourth Edi. John Wiley & Sons, Inc, USA, 1–548.

- Koch, T., S. Lakshmanan, S. Brand, M. Wicke, K. Raum, y D. Mörlein. 2011a. Ultrasound velocity and attenuation of porcine soft tissues with respect to structure and composition: II. Skin and backfat. *Meat Sci.* 88:67–74.
- Koch, T., S. Lakshmanan, S. Brand, M. Wicke, K. Raum, y D. Mörlein. 2011b. Ultrasound velocity and attenuation of porcine soft tissues with respect to structure and composition: I. Muscle. *Meat Sci.* 88:51–58.
- Kvam, J., y J. Kongsro. 2017. In vivo prediction of intramuscular fat using ultrasound and deep learning. *Comput. Electron. Agric.* 142:521–523.
- Lazar, C., M. A. Gras, R. Pelmus, E. Ghita, y M. C. Rotar. 2017. Improvement of Meat Quality Evaluation by Ultrasound in Carpatina Goat Breed. *Anim. Sc. Biotechnol.* 50:249–254.
- Leighton, T. G. 1994. *The Acoustic Bubble*, 1 Ed. Academic Press, USA.
- Lepetit, J. 2008. Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Sci.* 80:960–967.
- Llull, P., S. Simal, J. Benedito, y C. Rosselló. 2002. Evaluation of textural properties of a meat-based product (sobrassada) using ultrasonic techniques. *J. Food Eng.* 53:279–285.
- Llull, P., S. Simal, A. Femenia, J. Benedito, y C. Rosselló. 2002b. The use of ultrasound velocity measurement to evaluate the textural properties of sobrassada from Mallorca. *J. Food Eng.* 52:323–330.
- Ludwiczak, A., M. Stanisz, D. Lisiak, P. Janiszewski, M. Bykowska, J. Składanowska, y P. Ślósarz. 2017. Novel ultrasound approach for measuring marbling in pork. *Meat Sci.* 131:176–182.
- Ludwig, D. G. 1950. The Velocity of Sound through Tissues and the Acoustic Impedance of Tissues. *J. Acoust. Soc. Am.* 22:862–866.
- McClements, D. J., y G. Sundaram. 1997. *Ultrasonic Characterization of Foods and Drinks : Principles , Methods , and Applications*. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 37–41.
- McNamara, W. B., Y. T. Didenko, y K. S. Suslick. 1999. Sonoluminescence temperatures during multi-bubble cavitation. *Nature* 401:772–775.
- Morse, M., y K. U. Ingard. 1968. *Theoretical Acoustics*, 1 Ed. Mc Graw Hill, USA.
- Nayfeh, H. 1995. *Wave Propagation in Layered Anisotropic Media with Applications to Composites*, 1 Ed. Elsevier, The Netherlands.
- Nowak, K. W., y M. Markowski. 2013. A comparison of methods for the

- determination of sound velocity in biological materials: A case study. *Ultrasonics* 53:923–927.
- Nowak, K. W., M. Markowski, y T. Daszkiewicz. 2016. A modified ultrasonic method for determining the chemical composition of meat products. *J. Food Eng.* 180:10–15.
- Ophir, J., S. K. Alam, B. S. Garra, F. Kallel, E. E. Konofagou, T. Krouskop, C. R. B. Merritt, R. Righetti, R. Souchon, S. Srinivasan, y T. Varghese. 2002. Elastography: Imaging the elastic properties of soft tissues with ultrasound. *J. Med. Ultrason.* 29:155–171.
- Peña, F., R. Santos, M. Juárez, C. Avilés, V. Domenech, A. González, A. Martínez, y A. Molina. 2014. The use of ultrasound scanning at different times of the finishing period in lean cattle. *Livest. Sci.* 167:381–391.
- De Prados, M., J. V García-Pérez, y J. Benedito. 2015a. Non-destructive salt content prediction in brined pork meat using ultrasound technology. *J. Food Eng.* 154:39–48.
- De Prados, M., J. V Garcia-Perez, y J. Benedito. 2016. Ultrasonic characterization and online monitoring of pork meat dry salting process. *Food Control* 60:646–655.
- De Prados, M., E. Fulladosa, P. Gou, I. Muñoz, J. V Garcia-Perez, y J. Benedito. 2015b. Non-destructive determination of fat content in green hams using ultrasound and X-rays. *Meat Sci.* 104:37–43.
- Rossing, T. D. 2014. *Springer Handbook of Acoustics*, 2a ed. Springer. Standford, CA, USA.
- Stouffer, J. R., M. V. Wallentine, G. H. Wellington, y A. Diekmann. 1961. Development and Application of Ultrasonic Methods for Measuring Fat Thickness and Rib-Eye Area in Cattle and Hogs¹. *J. Anim. Sci.* 20:759–767.
- Stroup, W. W., G. A. Milliken, E. A. Claassen, y R. D. Wolfinger. 2018. *SAS for Mixed Models : Introduction and Basic Applications*.
- Sullivan, G. A., y C. R. Calkins. 2011. Ranking beef muscles for Warner-Bratzler shear force and trained sensory panel ratings from published literature. *J. Food Qual.* 34:195–203.
- Suslick, K. S. 1990. Sonochemistry. *Science* 247:1439-1445.
- Suslick, K. S., y D. J. Flannigan. 2008. Inside a Collapsing Bubble: Sonoluminescence and the Conditions During Cavitation. *Annu. Rev. Phys. Chem.* 59:659–683.
- Telis-Romero, J., H. A. Váquiro, J. Bon, y J. Benedito. 2011. Ultrasonic

- assessment of fresh cheese composition. *J. Food Eng.* 103:137–146.
- Temple, R., H. Stonaker, D. Howry, G. Posakony, y M. Hazaleus. 1956. Ultrasonic and conductivity methods for estimating fat thickness in live cattle. *Proc. West. Sec. Am. Soc. Anim. Prod.* 7:477.
- Vasighi-Shojae, H., M. Gholami-Parashkouhi, D. Mohammadzamani, y A. Soheili. 2018. Ultrasonic based determination of apple quality as a nondestructive technology. *Sens. Biosensing Res.* 21:22–26.
- van Wijngaarden, L. 2016. Mechanics of collapsing cavitation bubbles. *Ultrason. Sonochem.* 29:524–7.