

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**ULTRASONIDO COMO HERRAMIENTA PARA MEJORAR LA CALIDAD
DE LA CARNE DE BOVINOS CRIOLLO RARÁMURI**

POR:

M. C. REYES OMARO CARAVEO SUÁREZ

DISERTACIÓN PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL

GRADO DE DOCTOR IN PHILOSOPHIA

ÁREA MAYOR: TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

JUNIO DE 2022



Ultrasonido como herramienta para mejorar la calidad de la carne de bovinos Criollo Rarámuri. Disertación presentada por Reyes Omaro Caraveo Suárez 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. Alma Delia Alarcón Rojo
Presidente

24 JUNIO DEL 2022

Fecha

Comité:

Ph.D. Iván Adrián García Galicia
Dr. Luis Manuel Carrillo López
Dr. Eduardo Santellano Estrada
Dra. Mariana Huerta Jiménez

AUTOR. REYES OMARO
CARAVEO SUÁREZ
DIRECCIÓN: PERIFÉRICO
FRANCISCO R. ALMADA
KM. 1, CHIHUAHUA, CHIH.,
MÉXICO C.P. 31453

JUNIO 2022

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua por haberme aceptado en el programa de posgrado.

A la Dra. Alma Delia Alarcón Rojo por haberme aceptado como su tesista para colaborar en su proyecto de investigación y participar en mi formación académica desde la licenciatura.

A los miembros de mi Comité Doctoral, por haberme apoyado en mi formación durante el avance de mi tesis y por sus aportaciones en la investigación.

A la Dra. Monserrat Félix Portillo por ser su ayuda en el último semestre.

A CONACYT por haberme otorgado la beca de posgrado.

CURRICULUM VITAE

2008-2012

Nivel Superior. Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia y Ecología obteniendo el título de Ingeniero Zootecnista en Sistemas de Producción con especialidades en Tecnología de Productos de Origen Animal (T.P.O.A) y Bovinos Productores de Carne.

2014-2016

Nivel maestría. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Instituto de Ciencias Biomédicas obteniendo el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias Sustentables.

RESUMEN GENERAL

ULTRASONIDO COMO HERRAMIENTA PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA
CARNE DE BOVINOS CRIOLLO RARÁMURI

POR:

M.C REYES OMARO CARAVEO SUÁREZ

Doctor en Philosophia

Secretaria de Investigación y Posgrado

Área Mayor: Ciencia de la Carne

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Ph. D Alma Delia Alarcón Rojo

Se realizaron tres estudios para evaluar el efecto del ultrasonido sobre las propiedades fisicoquímicas y estructurales en carne de ganado Rararumi Criollo, una raza bovina autóctona mexicana. El primer estudio tuvo como objetivo analizar datos fisicoquímicos para determinar el tratamiento ultrasónico de alta intensidad (UAI) más eficaz para la mejora de la calidad de la carne bovina. Se utilizó un análisis multivariado para definir los principales efectos atribuidos a la aplicación de UAI, el empaquetado y el almacenamiento de la carne. El análisis de conglomerados en el análisis MANOVA mostró la formación de 12 grupos con diferencias significativas ($P < 0.05$) entre ellos. Cada variable tuvo un papel importante en la explicación de los datos indicando que todas las variables deben considerarse en futuros estudios sobre el efecto de UAI en la calidad de la carne. El análisis multivariado indicó que la carne de res sonicada a 16-28 W/cm²

durante 20-40 min y envasada en atmósfera modificada tenía la mejor calidad fisicoquímica. Este estudio confirmó la eficacia de las técnicas multivariadas en la evaluación de la calidad de la carne de vacuno. El segundo estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del UAI sobre las propiedades fisicoquímicas y texturales de la carne de ganado Rararumi Criollo. El UAI aumentó ($p < 0,05$) la luminosidad y la tendencia al color amarillo (b^*) de la carne. Se observó un valor b^* más alto ($p < 0,05$) en el músculo *L. dorsi* que en el músculo *T. brachii*. No se detectó ningún efecto del UAI sobre la pérdida por goteo, el pH, la capacidad de retención de agua y el colágeno total de la carne almacenada por 15 días. El UAI mostró un efecto ablandador ($p < 0.05$) en la carne. *L. dorsi* fue más blando y mostró mayor pH y capacidad de retención de agua (CRA) que *T. brachii*. En general, UAI es un método potencial para ablandar la carne de ganado Raramuri Criollo sin un impacto negativo en otras características de calidad. UAI es una tecnología emergente que podría agregar valor a las razas autóctonas y brindar una nueva oportunidad para el creciente mercado de la carne. Este objetivo del tercer estudio fue evaluar el efecto del ultrasonido enfocado de alta frecuencia (UEAF) en la calidad del músculo *Triceps brachii* bovino. Se aplicaron cuatro tratamientos (0, 10, 20 y 30 min) de UEAF (2 MHz y 1.5 W/cm²). HFFU mejoró la blandura de la carne sin impactos negativos en el color, el pH, la pérdida por goteo y la CRA de la carne. HFFU ofrece la opción de ablandar músculos específicos o regiones anatómicas de la canal de res. Estos hallazgos brindan nuevos conocimientos sobre la posible aplicación de ultrasonido en el procesamiento de carne.

ABSTRACT

ULTRASOUND AS A TOOL TO IMPROVE THE QUALITY OF MEAT IN
CREOLE BREEDS: STUDY IN THE CRIOLLO RARAMURI CATTLE

BY:

M.C REYES OMARO CARAVEO SUÁREZ

Three studies were carried out to evaluate the effect of ultrasound on the physicochemical and structural properties in meat of *Rararumi Criollo* cattle, a Mexican autochthonous bovine breed. The first study aimed to analyze physicochemical data in order to determine the most effective HIU treatment for the quality improvement of meat. Multivariate analysis was used to define the main effects attributed to the application of HIU, packaging and storage of beef. The cluster analysis in the MANOVA analysis showed the formation of 12 groups with significant differences ($P < 0.05$) among them. Each variable had an important role in explaining the data and all variables should be considered in future studies about HIU effect on meat quality. Multivariate analysis indicated that beef sonicated at 16-28 W/cm² for 20-40 min and packed in modified atmosphere had the best physicochemical quality. This study confirmed the efficacy of multivariate techniques in assessing the quality of beef. The objective of the second study was to evaluate the effect of high-intensity ultrasound (HIU) on the physicochemical and textural properties of meat from *Rararumi Criollo*. HIU increased ($p < 0.05$) luminosity and yellowness (b^*) of meat. Higher b^* ($p < 0.05$)

was observed in *L. dorsi* than in *T. brachii* muscle. No effect of HIU was detected on drip loss, pH, water holding capacity and total collagen of meat during storage up to 15 days. HIU showed a tenderizing effect ($p < 0.05$) on meat. *L. dorsi* was more tender and it had higher pH and WHC than *T. brachii*. Overall, HIU is a potential method for tenderizing *Raramuri Criollo* cattle meat without negative impact on other quality characteristics. HIU is an emerging technology that could add value to indigenous breeds and provide a new opportunity for the growing meat market. This aim of the third study was to evaluate the effect of high-frequency focused ultrasound (HFFU) on quality traits of bovine *Triceps brachii*. Four treatments (0, 10, 20, and 30 min) of HFFU (2 MHz and 1.5 W/cm²) were applied to bovine *T. brachii* muscle. HFFU improved beef tenderness without negative impacts on color, pH, drip loss, and water holding capacity of meat. HFFU offers the option of tenderizing specific muscles or anatomical regions of the beef carcass. These findings provide new insights into the potential application of ultrasound in meat processing.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	iii
CURRICULUM VITAE	iv
RESUMEN GENERAL	v
ABSTRACT	vii
LISTA DE CUADROS	xiv
CURRICULUM VITAE	iv
LISTA DE GRÁFICAS	xvii
LISTA DE FIGURAS	xviii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
REVISIÓN DE LITERATURA	2
Razas Criollas Bovinas	2
Antecedentes de la Raza Criollo Rarámuri	3
Necesidades de la Mejora de la Raza Rarámuri Criollo	4
Generalidades del Ultrasonido	5
Cavitación	6
Aplicaciones en la Industria Alimenticia	7
Efectos Sobre Las Propiedades Fisicoquímicas De La Carne	8
pH	8
Capacidad de retención de agua	9

Terneza de la carne	11
Colágeno	13
Color de la carne	14
Microbiología de la carne	17
Transferencia de masa	21
CONCLUSIONES	25
LITERATURA CITADA	27
ESTUDIO I. ANÁLISIS MULTIVARIADO INTEGRADO COMO HERRAMIENTA PARA EVALUAR LOS EFECTOS DEL ULTRASONIDO SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE	40
RESUMEN	41
ABSTRACT	43
INTRODUCCIÓN	44
MATERIALES Y MÉTODOS	47
Origen de los Datos	47
Análisis Estadístico	47
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
Análisis de Componentes Principales (ACP)	50
Análisis de Grupos o Conglomerados (Clúster)	51

Análisis Multivariado de la Varianza (MANOVA) y Caracterización de Grupos de Tratamiento	55
Análisis Discriminante	58
Variables Fisicoquímicas	65
Color	65
Capacidad de retención de agua (CRA) y pérdida por goteo (PG)	69
Esfuerzo de corte (EC)	72
CONCLUSIONES	74
LITERATURA CITADA	76
ESTUDIO II.- ULTRASOUND AS A POTENTIAL TECHNOLOGY TO IMPROVE THE QUALITY OF MEAT PRODUCED FROM A MEXICAN AUTOCHTHONOUS BOVINE BREED	82
RESUMEN	83
ABSTRACT	85
INTRODUCTION	86
MATERIALS AND METHODS	88
Animals	88
Meat Samples	88
Ultrasound Treatments	89
Colour Determination	89

pH Determination	91
Drip Loss	91
Water-Holding Capacity	91
Shear Force	92
Scanning Electron Microscopy (SEM)	93
Statistical Analysis	94
RESULTS AND DISCUSSION	94
Colour	96
pH	99
Drip loss	99
Water Holding Capacity	101
Shear Force.....	101
Collagen	103
Microstructure	104
CONCLUSIONS	110
REFERENCES	111
ESTUDIO III.- HIGH-FREQUENCY FOCUSED ULTRASOUND ON QUALITY TRAITS OF BOVINE TRICEPS BRACHII MUSCLE	118
RESUMEN	119

ABSTRACT	121
INTRODUCTION	122
MATERIALS AND METHODS	124
RESULTS AND DISCUSSION.....	126
CONCLUSIONS	132
AUTHOR CONTRIBUTIONS	133
REFERENCES	133
CONCLUSIONES GENERALES.....	138

LISTA DE CUADROS

Cuadro /Table		Página
	Estudio 1. Análisis multivariado integrado como herramienta para evaluar los efectos del ultrasonido sobre la calidad de la carne	
1	Caracterización de tratamientos aplicados en experimentos de ultrasonido (US).....	49
2	Descripción de los clústers formados en el análisis de grupo.....	56
3	Prueba estandarizada de Tukey (TSD) para variables de color de carne de bovino.....	59
4	Prueba estandarizada de Tukey (TSD) para la pérdida por goteo (PG), la capacidad de retención de agua (CRA) y esfuerzo de corte (EC) de la carne de bovino.	60
5	Análisis discriminante para la reclasificación de clústeres y la selección de variables.....	62
	Estudio 2. Ultrasound as a potential technology to improve the quality of meat produced from a Mexican autochthonous bovine breed.	
1	Significant effects associated with the F statistic (p-values) by GLM or a mixed model analysis. The means represent 6 storage times (0, 3, 6, 9, 12 and 15 d) with 2 ultrasonication times (HIU, 0 and 20 min) from 2 muscles (<i>Longissimus dorsi</i> and <i>Triceps brachii</i>).....	95
2	Colour parameters (CIE L*a*b*, Chroma, HUE and ΔE) of muscles treated with high-intensity ultrasound (HIU) and stored at different times (least square means \pm standard error).....	97
3	Physicochemical variables of muscles treated with high-intensity ultrasound (HIU) and stored at different times (least square means \pm standard error).....	100

4	Collagen and total collagen fractions of muscles treated with high-intensity ultrasound and stored at different times (least square means \pm standard error).....	105
	Estudio 3. High-frequency focused ultrasound on quality traits of bovine <i>Triceps brachii</i> muscle.	
1	Tukey HSD (honest significant difference) test for trichromatic variables of bovine <i>Triceps brachii</i> after ultrasound treatment at different times.....	127

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Página
	Estudio 1. Análisis multivariado integrado como herramienta para evaluar los efectos del ultrasonido sobre la calidad de la carne	
1	ACP aplicado a las propiedades fisicoquímicas de la distribución de los tratamientos evaluados	52
2	Gráfico de posición de las muestras y proyección de las variables analizadas	53
3	Dendrograma obtenido para variables de calidad de la carne	54

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
	Estudio 2. Ultrasound as a potential technology to improve the quality of meat produced from a Mexican autochthonous bovine breed.	
1	Diagram of the experiment. DL = drip loss; WHC = water-holding capacity; SF = shear force.....	90
2	Microstructural changes in <i>Longissimus dorsi</i> from Raramuri Criollo cattle without ultrasound (CON) and with ultrasound (US) during the storage period (0, 6 and 15 d). Scale bar = 50 μm , magnification 500x. The areas marked in yellow correspond to the areas of interfibrillar spaces in an area of 10,000 μm^2	107
3	Microstructural changes in <i>Triceps brachii</i> from Raramuri Criollo cattle without ultrasound (CON) and with ultrasound (US) during the storage period (0, 6 and 15 d). Scale bar = 50 μm , magnification 500x. The areas marked in yellow correspond to the areas of interfibrillar spaces in an area of 10,000 μm^2	108
	Estudio 3. High-frequency focused ultrasound on quality traits of bovine <i>Triceps brachii</i> muscle.	
1	Meat quality traits after high-frequency focused ultrasound application. (a) pH value, (b) drip loss, (c) water holding capacity (WHC), (d) shear force. Treatments: Control = meat without ultrasound treatment, US10 = meat with the application of 10 min ultrasound, US20 = meat with the application of 20	

min ultrasound, US30 = meat with the application of 30 min ultrasound. a,b Different letters within the same trait denote significant difference ($p < 0.05$)..... 128

INTRODUCCIÓN GENERAL

En la actualidad la industria alimentaria mundial tiene como objetivo ofrecer alimentos naturales, sanos, inocuos, con alto valor nutritivo y con una mayor vida de anaquel. Al mismo tiempo, los consumidores se preocupan más por la salud y están pendientes del uso de productos químicos en el procesado de los alimentos (Feng y Yang, 2011). Es así, como continuamente se investigan nuevas técnicas para elaborar y conservar alimentos. Resultado de estas investigaciones el procesado con fundamento físico y no invasivos ha adquirido importancia para alargar la vida de anaquel, mejorar y hacer más eficiente el procesado e inhibir la proliferación de microorganismos indeseables, minimizando el impacto en las propiedades nutritivas y organolépticas de los alimentos.

Uno de estos métodos utilizados para el procesado de los alimentos es el ultrasonido de alta intensidad (Bilek y Turantaş, 2013). En la última década, algunos investigadores han estudiado los efectos del ultrasonido de alta intensidad (UAI) (solo o en combinación con otras técnicas de procesado) para evaluar la calidad de la carne, en términos de capacidad de retención de agua, pH, color, propiedades funcionales de las proteínas, vida de anaquel, composición de la carne, y la inactivación de microorganismos (Brewer, 2012; Zhou *et al.*, 2012). Es por esto que el UAI ha sido objeto de interés para la industria cárnica.

El objetivo de este capítulo es brindar un panorama sobre el UAI en la industria de la carne, enfatizando en los efectos sobre los principales parámetros de calidad.

REVISIÓN DE LITERATURA

Razas Criollas Bovinas

Los bovinos denominados criollos son aquellos descendientes de los primeros *Bos taurus* que llegaron al continente americano, traídos por los españoles. En México se tienen registros que arribaron al puerto de Veracruz en 1521 y a Campeche en 1543 (De Alba, 2011). Posteriormente, estos animales fueron reproducidos en diversas condiciones climáticas y de alimentación de cada región; lo cual dio origen a la creación de distintos grupos raciales debido a la remota ubicación geográfica y la selección genética natural a través del tiempo.

Actualmente en México las razas denominadas criollas tienen distribución y origen en diferentes regiones: Baja California Sur, ganado de rodeo en Chihuahua en el norte de México; región del Golfo en la Costa de Veracruz; Sierra Madre Occidental en los estados de Durango, Jalisco, Nayarit y Zacatecas; Mixteca en Oaxaca, Guerrero y Puebla; sierra de Chiapas y Nunkiní en la Península de Yucatán (Villaseñor *et al.*, 2017). También se han introducido en las zonas cálidas animales de las razas Romosinuano y Lechero tropical, provenientes de Estados Unidos y Costa Rica (De Alba 2011). Se desconoce el estado actual del inventario del número de cabezas de razas criollas, pero informes señalan que este tipo de ganado se encuentra en peligro de extinción,

debido principalmente a la reducción de sus núcleos genéticos por cruzamientos con otras razas de origen europeo y en otros casos con razas de tipo cebú (FAO, 2015).

Antecedentes de la Raza Criollo Rarámuri

La raza Rarámuri Criollo es un biotipo *Bos taurus* con características que se muestran prometedoras para una producción rentable y sostenible en las áridas fincas unidas del suroeste. La investigación en el rancho ha demostrado que, en comparación con las razas comúnmente utilizadas para la producción de carne, estos animales recorren mayores distancias en busca de agua, pasan más tiempo pastando y se alimenta de pastos de baja calidad y parece experimentar menos estrés por calor, mientras aumenta de peso y mantiene la condición corporal deseable (Anderson *et al.*, 2015).

Esta raza es uno de los 33 biotipos conocidos de ganado criollo patrimonial que existen en todo el continente americano en la actualidad. Las comunidades tarahumaras de las Barrancas del Cobre de Chihuahua, México, han criado ganado criollo rarámuris en lugares bastante aislados durante casi cuatro siglos. Estos animales se han sometido a una selección natural para adaptarse al entorno variable de las Barrancas del Cobre de la sierra de Chihuahua (Anderson *et al.*, 2015).

La observación e investigación de los ganaderos sugiere que la raza Criollo Rarámuri tiene las siguientes características:

- Distribución y eficiencia mejoradas durante el forrajeo
- Resistente, autosuficiente y adecuado para entornos áridos

- Menor impacto en suelos y vegetación
- Canal de calidad de la dieta forrajera
- Habilidad materna
- Alta fertilidad y longevidad
- Temperamento suave
- Becerras pequeños (facilidad al parto)

Necesidades de la Mejora de la raza Rarámuri Criollo

La conservación de las razas ganaderas criollas es importante para preservar la diversidad genética ya que es fundamental para garantizar la adaptación al cambio climático mundial. El uso de la genética ganadera de estas razas para cumplir con los objetivos de producción animal y conservación de los ecosistemas en las tierras de pastoreo ha cobrado impulso en años recientes (Scasta *et al.*, 2016; Pauler *et al.*, 2019). El ganado Criollo Rarámuri tiende a ser más pequeño que las razas de ganado europeo, por lo tanto, requieren menor energía, pueden producir mayor número de becerros (a través de la longevidad lo que se traduce en una mayor vida productiva), tienen una mayor capacidad de adaptarse a la variación climática (Scasta *et al.*, 2016) y exhiben comportamientos de forrajeo que se han asociado con menores huellas ambientales en comparación con las razas de ganado de carne convencionales (Anderson *et al.*, 2015; Pauler *et al.*, 2019).

Por lo tanto, los investigadores han especulado que la cría de ganado criollo puede permitir a los ganaderos del desierto cumplir con los objetivos de producción animal y conservación de pastizales en el suroeste de los Estados

Unidos, donde el clima se está volviendo más cálido y seco (Pauler *et al.*, 2019).

Se cree que los rasgos de rusticidad presentes en el ganado Criollo Rarámuri son el resultado de cuatro siglos de selección seminatural (Anderson *et al.*, 2015). La preservación de este recurso ganadero depende de una descripción detallada de sus características fenotípicas y genotípicas. Aunque varios estudios han caracterizado genotipos de ganado criollo de Chihuahua, México (Ginja *et al.*, 2019) hasta la fecha no se ha publicado una descripción sistemática de los rasgos fenotípicos Criollos Rarámuri ni estudios sobre las propiedades de calidad de la carne de esta raza.

Generalidades del Ultrasonido

El ultrasonido se refiere a las ondas de sonido más allá del rango de frecuencia audible (> 20 kHz). Cuando las ondas de ultrasonido pasan a través de un medio líquido, la interacción entre el líquido y el gas disuelto provocan un fenómeno conocido como cavitación (Ashokkumar, 2011). En los equipos de ultrasonido la vibración del sonido se genera mediante un transductor piezoeléctrico Langevin, el cual consta de dos elementos cerámicos que cambian su tamaño como respuesta a un campo eléctrico. En un equipo de ultrasonido, cuatro o seis de estos transductores generalmente se colocan en un patrón regular debajo de la base del mismo (Ninoles, 2010). Como el ultrasonido es una onda mecánica, sus características como frecuencia, longitud de onda y amplitud pueden influir en la cavitación acústica.

Asimismo, la potencia de entrada, el diseño del reactor y la forma de la sonda pueden influir en el proceso (Azmir *et al.*, 2013; Rajha *et al.*, 2015).

Un baño ultrasónico simple es la configuración comúnmente utilizada para el modo indirecto de irradiación y también es una configuración económica donde se aplica el ultrasonido a través de los transductores colocados en una placa unida al fondo del recipiente (Sancheti y Gogate, 2017). Las ondas deben ser transferidas a través del agua hasta que llegue a la muestra (carne, frutas, vegetales, leche, etc.) que será sometida a tratamiento ultrasónico (Kek *et al.*, 2013).

Los sistemas de sonda tienen una alta intensidad de cavitación obtenida para los volúmenes operativos más bajos. La energía acústica se introduce directamente en el líquido y la potencia disipada en la mezcla de reacción puede cambiarse, aunque la frecuencia de irradiación permanece constante. El sistema de sonda proporciona una intensidad aproximadamente 100 veces más alta que la del baño ultrasónico (Sancheti y Gogate, 2017).

Cavitación

Las ondas de ultrasonido, al pasar a través de un medio líquido, provocan la vibración mecánica del líquido. Además de este efecto, el ultrasonido también genera transmisión acústica dentro del medio. Si el medio líquido contiene núcleos de gas disuelto, lo cual se da en condiciones normales, éstos pueden crecer y colapsarse debido a la acción del ultrasonido. Este fenómeno de crecimiento y colapso de microburbujas bajo un campo ultrasónico se conoce como cavitación (Ashokkumar y Mason, 2007). Lo anterior conduce al crecimiento de las burbujas hasta un tamaño máximo en cada ciclo de onda y estas colapsan generando altas temperaturas (5500 °C) y presión (50 Mpa)

durante un corto período de tiempo (Bhaskaracharya *et al.*, 2009).

Kassai (2013) mostró que a medida que aumenta la intensidad de la onda ultrasónica se genera una presión acústica más alta, lo que conduce a un colapso mayor y más violento y a un consiguiente incremento efectos químicos o físicos. Por lo tanto, el fenómeno de UAI puede producir una variedad de alteraciones en tejidos y materiales biológicos.

Aplicaciones en la Industria Alimenticia

El ultrasonido de potencia tiene un rango amplio de aplicaciones, sin embargo, muy pocos procesos se han implementado en el procesamiento de alimentos a nivel industrial. Estos son principalmente procesos de extracción y emulsificación en la industria láctea, producción de jugos de frutas y vegetales, decontaminación de vegetales frescos, entre otros (Patist y Bates, 2008).

Durante la última década, el uso de ultrasonido de potencia se ha convertido en una técnica alternativa de procesamiento no térmico de los alimentos. El ultrasonido, ya sea solo o en combinación con diferentes técnicas de procesado, ha demostrado tener potencial para mejorar la calidad de la carne, particularmente mejora propiedades como la blandura, propiedades de las proteínas, vida de anaquel y transferencia de masa (Chang *et al.*, 2015). Además, reduce el uso de sal en carnes procesadas, además de mejorar la cocción y provocar la inactivación de microorganismos en la carne y productos derivados (Alarcón-Rojo *et al.*, 2015; Turantaş *et al.*, 2015).

También se ha demostrado que el ultrasonido de potencia aumenta la blandura de la carne al provocar una alteración de la integridad de la fibra

muscular y modificaciones en la estructura del colágeno (Xiong *et al.*, 2015).

El ultrasonido puede reducir el tiempo de salmuera sin afectar la calidad de la carne, a la vez que mejora las tasas de difusión de sal (McDonnell *et al.*, 2014; Ojha *et al.*, 2016). Además, aumenta la capacidad de retención de agua y la cohesión en la carne y los productos cárnicos (McClements, 1995). Asimismo, el ultrasonido tiene efecto sobre la degradación muscular (Xiong *et al.*, 2012).

Efectos Sobre las Propiedades Fisicoquímicas de la Carne

pH

Numerosos estudios se han centrado en obtener carne con mejores cualidades tecnológicas y sensoriales. En este sentido, el ultrasonido ha mostrado efectos tanto positivos como negativos. Las diferencias en los resultados se deben a factores intrínsecos (raza, especie, edad y tipo de músculo) y extrínsecos (sistemas ultrasónicos, tiempo, intensidad y frecuencia (Alarcón-Rojo *et al.*, 2015). Aunque en algunos estudios se ha observado que el ultrasonido no influye en el pH (Dolatowski *et al.*, 2000; Stadnik *et al.*, 2008), otros autores observaron que este parámetro es afectado por el tratamiento de sonicación. Caraveo *et al.* (2015) reportaron una disminución en los valores de pH de músculo *Semitendinosus* sometidos a dos tiempos de ultrasonido, aunque los valores se mantuvieron dentro del rango normal de la carne (5.4 a 5.6). Saleem y Ahmad (2016) reportaron un aumento de 0.15 unidades en muestras de pollo después de ser sonicada. A su vez, González-González *et al.* (2017) reportaron un incremento de 0.2 unidades en músculo *Longissimus dorsi*

sometido a un tratamiento de 60 min de ultrasonido. Este aumento en el pH está asociado con la desnaturalización de proteínas, ya que el UAI genera radicales libres altamente reactivos y peróxido de hidrógeno que interactúan con las proteínas. Lo anterior resulta en una disminución en los grupos ácidos de las proteínas musculares (Soria y Villamiel, 2010) e indica que el pH podría afectarse. Sin embargo, las variaciones en ambos casos no representan ningún problema debido a que los valores de pH de la carne sonicada casi siempre se encuentran dentro de los valores normales para la carne fresca.

Capacidad de retención de agua (CRA)

La CRA es un parámetro de calidad de la carne con importancia económica (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005). Por ello, es importante evaluarla en carnes que han recibido tratamiento con ultrasonido. El ultrasonido aumenta el porcentaje de exudado y la pérdida de agua de la carne (Chang *et al.*, 2015). Stadnik *et al.* (2008) y Saleem (2016) informaron que el ultrasonido causa un aumento en la CRA de carne de res y pollo, mientras que Caraveo *et al.* (2015) reportaron que el ultrasonido aumentó la CRA durante los días posteriores al tratamiento. Sin embargo, Siró *et al.* (2009) y McDonnell *et al.* (2014) no encontraron ningún efecto en la CRA durante un procedimiento de curado, lo cual puede indicar que solo es un efecto en la superficie de la carne. A su vez, Ozuna *et al.* (2013) y Kang *et al.* (2016) consideran que el ultrasonido puede inducir cambios microestructurales tanto en el interior como en la superficie de la carne durante el proceso de curado. Esto podría sugerir un resultado diferente de la CRA de la carne.

Kang *et al.* (2017) exploraron los mecanismos del ultrasonido de potencia (USP, 150 y 300 W) y el tiempo de tratamiento (30 y 120 min) sobre la CRA y la ternura de la carne durante el curado. El músculo de res a las 48 h post-mortem se sometió a tratamiento con USP a una frecuencia de 20 kHz. El análisis de la pérdida de compresión y la fuerza de corte mostró que el curado asistido por USP aumentó significativamente la CRA y la ternura de la carne en comparación con la salmuera estática.

Carrillo-López *et al.* (2019) demostraron que el ultrasonido (37 kHz y 7 W/cm², 60 min; 7 d maduración) presentó efecto en la CRA de la carne después de 7 d de almacenamiento. Mientras que González-González *et al.* (2020) reportaron que el ultrasonido (40 kHz; 11 W/cm²; 40, 60 y 80 min; 7 y 14 d maduración) mejoró la CRA de músculos como *L. lumborum* e *Infraespinatus*, después del proceso de maduración. Por otra parte, García-Galicia *et al.* (2020) observaron que al aplicar ultrasonido (37 kHz, 90 W/cm², durante 40 min) en res empacada al vacío, la CRA se mantiene durante la exhibición a la venta al por menor. Lo anterior indica que el efecto del ultrasonido está relacionado directamente con los cambios que éste provoca a nivel estructural. Las variaciones encontradas por los autores pueden atribuirse a diversos factores como el tipo de músculo, tiempo de tratamiento de ultrasonido, intensidad, entre otros. Los estudios demuestran que cuando el pH tiende a incrementar su valor y se aproxima al punto neutro, las cargas iónicas entre las fibras musculares aumentan, y como consecuencia se puede incrementar la cantidad de agua retenida en la estructura muscular.

Terneza de la carne

La terneza es uno de los atributos más importantes de la carne que influyen en la aceptación del consumidor (Istrati, 2008). El ablandamiento posterior al sacrificio es el resultado de la proteólisis de las proteínas miofibrilares y del citoesqueleto por acción de las proteasas, así como la disminución de compuestos del tejido conectivo, especialmente del colágeno (Lawrie y Ledward, 2006).

La compresión y la depresión inducidas por ondas ultrasónicas producen microburbujas en la estructura cuya implosión conduce al fenómeno de cavitación. Esta propaga ondas de choque de alta energía a través del tejido, causando daños (Got *et al.* 1999; Awad *et al.*, 2012). El ultrasonido puede aumentar la liberación de catepsina y de calcio como resultado de la disrupción física de los músculos (Got *et al.*, 1999; Turantaş *et al.*, 2015). Se ha reportado que la cavitación provoca una alteración de la estructura de las proteínas miofibrilares (Stadnik y Dolatowski, 2011) además provoca rompimiento del colágeno y movilización de proteínas, minerales y otros compuestos, causando una aceleración de la proteólisis o desnaturalización de las proteínas (Siro *et al.*, 2009). Adicionalmente, Chang *et al.* (2012) indicaron que la aplicación de ultrasonido (40 kHz, 1500 W) en músculo *Semitendinosus* en tiempos de 10, 20, 30, 40, 50 y 60 min, disminuyó el diámetro de la fibra muscular sin ningún efecto sobre el contenido de colágeno insoluble. Sin embargo, tuvo efectos en la estabilidad térmica, algunas propiedades del colágeno y en la textura de la carne. A su vez Peña-González *et al.* (2017) reportaron un efecto positivo en la terneza del músculo *Longissimus dorsi* sometido a 60 min de ultrasonido. El esfuerzo de

corte de la carne continuó reduciéndose aún días después del tratamiento.

Existe evidencia de los efectos positivos del UAI sobre los cambios estructurales y su posible impacto en la suavidad de la carne. El efecto de suavizado del ultrasonido se ha descrito como un efecto principal (Chang *et al.*, 2015; de Lima Alves *et al.*, 2017; Peña-González *et al.*, 2017; Gómez-Salazar *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018), o cuando la tecnología es combinada con otras, tales como la marinación, maduración o adición de enzimas extrínsecas, como la papaína (Filomena-Ambrosio *et al.*, 2016; Kang *et al.*, 2016; Barekat y Soltanizadeh, 2017, 2018; González-González *et al.*, 2017; González-González *et al.*, 2017). Esta mayor actividad acelera e incrementa los cambios estructurales anteriormente mencionados durante procesos de maduración o de marinado y acarrea como consecuencia un efecto aditivo a la tenderización de la carne (Wang *et al.*, 2018). Aunque en menor grado, también se han reportado ausencia de efectos del UAI sobre la textura de la carne. Por ejemplo, al aplicar UAI *post-rigor* (600 kHz at 48 kPa and 65 kPa presión acústica, 40% y 100%), la fuerza de corte de lomo no presentó diferencias. Sin embargo, algunos músculos de cuello, respondieron positivamente y redujeron su fuerza al corte (Sikes *et al.*, 2014). A su vez, Jayasooriya *et al.* (2007) ya habían reportado una importante interacción entre el uso de UAI con el tiempo de maduración que tiene la carne. Estos autores reportaron un mayor efecto del ultrasonido sobre la suavidad de la carne que fue madurada por períodos cortos (0 a 1 d), y un menor efecto en la carne madurada por períodos mayores (3 a 8 d).

En conclusión, el ultrasonido afecta la degradación *postmortem* de las proteínas miofibrilares las cuales están relacionadas a cambios en la estructura

de las fibras lo que se traduce en una mayor blandura de la carne durante la maduración. Por otra parte, la cavitación actúa sobre el tejido de la carne rompiendo la pared de las células y provocando un aumento de las reacciones enzimáticas. La efectividad del ultrasonido en ablandar la carne ha sido atribuida a la ruptura mecánica de la estructura de proteínas miofibrilares, la fragmentación del colágeno lo cual provoca una aceleración de la proteólisis y/o desnaturalización de las proteínas.

Colágeno

La blandura de la carne está relacionada con el contenido de colágeno y con la estructura de las miofibrillas del músculo (Monsón *et al.*, 2005). La reticulación del colágeno (creación de puentes entre fibras de colágeno) es un proceso que incrementa con la edad del animal y ha sido asociado a la disminución de la ternura de la carne (Warriss, 2010). Las altas temperaturas solubilizan el colágeno, lo cual implica un ablandamiento de la misma, pero también tiene un efecto desnaturalizante sobre las proteínas miofibrilares.

El resultado neto depende de las condiciones del cocinado (Obuz *et al.*, 2003). Chang *et al.* (2015) evaluaron el efecto del ultrasonido a una frecuencia de 40 kHz y una intensidad de 1500 W/cm² con diferentes tiempos de exposición (10, 20, 30, 40 50 y 60 min) sobre la calidad de la carne y el contenido de colágeno de músculo Semitendinosus bovino. Ellos observaron que la aplicación de ultrasonido no tuvo ningún efecto sobre la pérdida de cocción o el contenido de colágeno insoluble y se presentaron pocos efectos sobre el contenido y solubilidad del colágeno. La resistencia mecánica del tejido conectivo disminuyó

en la carne tratada con ultrasonido. Después del tratamiento con ultrasonido de ≥ 10 min, las fibras musculares se contrajeron, el endomisio se rompió y el grosor del perimisio disminuyó. Estos autores concluyeron que el ultrasonido de baja frecuencia y alta potencia tuvo efectos significativos sobre la textura de la carne y las propiedades del tejido conectivo (Chang *et al.*, 2015).

Color de la carne

El color juega un papel importante en la evaluación visual de la calidad de la carne y en la aceptación de ésta por parte del consumidor. Por lo tanto, la medición de los parámetros de color es una técnica importante en el control de calidad. El color en la carne está determinado por tres pigmentos. La desoximioglobina es el pigmento púrpura que se observa cuando la carne está fresca o recién cortada. Ésta, al oxigenarse se transforma en oximioglobina la cual genera el color rojo cereza brillante que el consumidor espera en la carne de res. Al oxidarse, la oximioglobina se convierte en metamioglobina produciendo un color café en la carne el cual provoca rechazo por el consumidor (Lawrie y Ledward, 2006).

Para fines de investigación, el color de la carne ha sido ampliamente medido por las escalas de CIE $L^*a^*b^*$ y Hunter (Mancini y Hunt, 2005). Las coordenadas cromáticas han sido también ampliamente relacionadas con la calidad de la carne (Karamucki *et al.*, 2006; Hunt *et al.*, 2012). L^* se refiere a la luminosidad, a^* con valor positivo indica la tendencia al rojo y b^* con valor positivo refleja la tendencia al amarillo.

Existen factores que afectan el color en la carne, algunos pueden ser el

manejo *post-mortem*, que incluye manejo al sacrificio, tipo de empaque, exposición a la luz, temperatura y crecimiento bacteriano, entre otros (Pérez-Dubé y Andújar-Robles, 2000). El uso del UAI para mejorar el color en la carne ha sido amplio y se ha aplicado en diferentes especies animales. Particularmente en carne fresca, se ha sido utilizado para tratar de mejorar el color, además de otras características como la ternura y el sabor (Alarcón-Rojo *et al.*, 2015; Turantaş *et al.*, 2015). La mayoría de los estudios realizados muestran que los parámetros de color no se vieron afectados por el tratamiento con ultrasonido. Como resultado, no hubo diferencias significativas entre muestras sonicadas y de control. Se propuso que, aunque la temperatura aumentó durante el tratamiento con ultrasonido, este incremento es insuficiente para la desnaturalización y la oxidación de la mioglobina y metamioglobina que son los pigmentos de color de la carne (Jayasooriya *et al.*, 2007). Pohlman *et al.* (1997) reportaron cambios en los parámetros de color de la carne después de la aplicación de UAI (22 W/cm²). La carne fue más clara (L* inferior), menos roja (a* más bajo), más amarilla (más alto b*), más naranja (ángulo de tono Hue* mayor) y menos brillante que la carne control. El calor generado durante el tratamiento se consideró la principal causa de este cambio de color. Por lo que, la desnaturalización y la oxidación de los pigmentos de color de la carne pueden afectar el color de la carne, al hacerla lucir más pálida y una menor intensidad del color rojo (Chang *et al.*, 2012).

Caraveo *et al.* (2015) no reportaron diferencias en la luminosidad al usar dos tiempos de sonicación. Peña-González *et al.* (2017) observaron que la carne tratada con ultrasonido a 60 min presentó un color más pálido durante el tiempo

de almacenamiento posterior a la sonicación. Otros autores notaron que el ultrasonido limitó la formación de oximioglobina y retardó la formación de metamioglobina, los cuales son componentes que influyen en el color (Stadnik y Dolatowski, 2011). Las diferencias entre los resultados pueden ser atribuidos al tiempo de tratamiento de ultrasonido, potencia utilizada, tipo de músculo o a la temperatura alcanzada durante la sonicación. Aunque esos autores (Stadnik y Dolatowski, 2011) consideraron que el calor generado no fue suficiente para la desnaturalización y oxidación de pigmentos del color.

La tendencia al amarillo (b^*) en carne de res es altamente influenciada por cualquier factor que afecte el estado redox de la mioglobina (Lindahl *et al.*, 2001). Normalmente, un incremento de b^* en carne de res, es relacionado con un incremento en coloraciones cafés en la misma (O'Sullivan *et al.*, 2003). Por ello, aunque en carne de cerdo este efecto es positivo, en carne de bovino, se puede considerar como una desventaja, ya que coloraciones cafés pueden llevar al rechazo de la carne en el mercado (Nowak *et al.*, 2017). Chroma (C^*) es una valoración que considera dos coordenadas cromáticas a^* y b^* , por lo que, para muchos autores, C^* representa una variable más integrada del color real de la carne y se ha vuelto, junto con a^* , las variables de mayor importancia para evaluar la carne de res o de ovino. En carne de res, un valor de C^* menor de 18, se ha identificado como el límite mínimo para que el consumidor acepte el producto (MacDougall, 1982).

El ultrasonido de potencia ha demostrado no tener efecto sobre el valor C^* de la carne lo cual puede considerarse como una ventaja, en caso que la aplicación de ultrasonido mejore otras características de calidad como la ternura

de la carne (Olivera *et al.*, 2013). Carrillo-López *et al.* (2019) al aplicar ultrasonido a una intensidad de 16, 28 y 90 W/cm² (20 y 40 min; 0 y 7 d almacenamiento) observaron una degradación importante en el color de carne sonicada, durante el almacenamiento. Los efectos del ultrasonido de potencia sobre el color de la carne deben tomarse con cautela sobre todo al declarar que el ultrasonido afecta definitivamente al color de la carne. Se ha observado que una vez que la carne es cocinada, los consumidores no detectan diferencia entre carne sonicada y carne control (Peña-González *et al.*, 2017; González-González *et al.*, 2017). Por otro lado, en productos procesados de cerdo, el ultrasonido de potencia no afecta los pigmentos hemo o la metamioglobina, lo cual ha sido considerado como un efecto positivo (de Lima-Alves *et al.*, 2017). En otro tipo de carne como la de conejo, el ultrasonido ha demostrado incrementar la L* pero reduce el efecto negativo que causa la adición de NaCl (70, 140 y 200 g/L) sobre la a* de la carne (Gómez-Salazar *et al.*, 2018).

Microbiología de la carne

La carne es un producto alimenticio altamente perecedero y se vuelve peligroso debido al crecimiento microbiano. Sin embargo, la contaminación microbiana es inevitable en las condiciones de procesamiento industrial (Sofos, 2008). Ciertas especies bacterianas se multiplican rápidamente debido al pH y la Aw favorables, alcanzando niveles que deterioran la calidad sensorial y causan descomposición (Doulgeraki *et al.*, 2012). La cantidad inicial de bacterias depende de su estado fisiológico al momento del sacrificio y del nivel de contaminación en el ambiente del matadero, incluyendo la higiene del personal,

así como herramientas y equipos utilizados (Serraino *et al.*, 2012).

En carne el deterioro microbiano conduce al desarrollo de malos olores y formación de espuma, lo cual hace al producto indeseable para el consumo humano (Jay, 2000). Los cambios organolépticos pueden variar de acuerdo a las asociaciones microbianas que contaminan la carne y a las condiciones de almacenamiento. Este deterioro está relacionado con el consumo de nutrientes de la carne como los azúcares y los aminoácidos libres, lo cual da como resultado la liberación de metabolitos volátiles indeseables. Cargas microbianas de 10^7 UFC/cm² están asociadas a malos olores como “a queso” o “mantecoso”, después evoluciona a olores “frutales” cuando la carga se incrementa e inician olores pútridos como resultado del consumo de aminoácidos libres, en este caso las cargas microbianas suelen estar en nivel de 10^9 UFC/cm² (Dainty *et al.*, 1985). Una vez que la glucosa presente en la fase acuosa ha sido utilizada, otros substratos son secuencialmente consumidos y transformados por las bacterias en compuestos olorosos nitrogenados como amoníaco y dimetilsulfuro (Stanbridge y Davies, 1998).

Diferentes especies y cepas relacionadas con el deterioro pueden colonizar la superficie de la carne bajo ciertas condiciones. Esto hace que la ecología microbiana del deterioro de la carne sea muy compleja y difícil de prevenir (Jay, 2000). Bajo condiciones aeróbicas, pocas especies del género *Pseudomonas* son reconocidas por dominar el sistema carne y contribuir al deterioro debido a su capacidad de degradar glucosa y aminoácidos, incluso a temperaturas de refrigeración. Otro microorganismo de la carne que también puede estar presente en pescado deteriorado es *Brochothrix thermosphacta*. Su

capacidad para crecer en carne durante condiciones de aerobiosis y anaerobiosis lo hacen un colonizador importante como flora del deterioro que produce malos olores (Pin *et al.*, 2002). Muchos miembros de la familia Enterobacteriaceae son importantes en carne, particularmente los géneros *Serratia*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Proteus* y *Hafnia*, que contribuyen al deterioro (Nychas y Drosinos, 1999). Finalmente, las bacterias acidolácticas (BAL) de los géneros *Lactobacillus*, *Carnobacterium* y *Leuconostoc*, juegan un rol importante en el deterioro de carne cruda refrigerada y son reconocidas como competidores importantes de los otros grupos microbianos relacionados con cambios indeseables en la carne (Gill, 1996). Se ha demostrado que las ondas ultrasónicas contribuyen al aumento de la seguridad microbiana y prolongan la vida útil, especialmente en alimentos con características nutricionales, sensoriales y funcionales sensibles al calor (Cao *et al.*, 2010; Bhat *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011). El ultrasonido aplicado a frecuencias de 20 a 100 kHz tiene la capacidad de crear efectos antimicrobianos físicos (micromecánicos) y químicos. El mecanismo total de inhibición microbiana se atribuye principalmente a la generación de cavitación intracelular que puede causar adelgazamiento de las membranas celulares, calentamiento y producción de radicales libres (Chemat *et al.*, 2011; Ashokkumar, 2011; Kang *et al.*, 2016). Durante el colapso de las burbujas de cavitación, se producen radicales hidroxilos. Los radicales hidroxilos se recombinan para formar peróxido de hidrógeno e hidrógeno molecular que tienen un efecto antimicrobiano debido a diferentes mecanismos que causan el adelgazamiento de la membrana celular y el daño del ADN (Chandrapala, 2015; Ferrario *et al.*, 2015).

Se ha documentado el efecto del ultrasonido para la descontaminación

microbiana y la extensión la vida de anaquel de varios alimentos como la col (Mansur y Oh, 2015), pimientos (Luo y Oh, 2015), productos lácteos (Forghani *et al.*, 2015) vegetales frescos como la lechuga y tomates (Afari *et al.*, 2016), carne de res (Caraveo *et al.*, 2015), carne de pollo (Piñón *et al.*, 2019) y carne de cerdo (Morild *et al.*, 2011). Caraveo *et al.* (2015) reportaron en efecto positivo en el recuento de bacterias mesofílicas en músculo *Semitendinosus* de res, ya que dos tratamientos de ultrasonido a 60 y 90 min redujeron las cuentas de bacterias mesofílicas, psicrófilas y coliformes. A su vez, Piñón *et al.* (2015) observaron una reducción en el crecimiento de *Salmonella spp*, *S. aureus* y *E. coli* en pechuga de pollo tratada con ultrasonido. Carrillo-López *et al.* (2019) reportaron una reducción en bacterias psicrófilas y coliformes, mientras que las bacterias mesófilas se vieron incrementadas al aplicar ultrasonido (37 KHz, 7 W/cm²; 60 min; 0 y 7 d almacenamiento) en muestra de carne de m. *Longissimus dorsi*, lo cual podría considerarse como una tecnología eficiente para ser utilizada en la carne de res para mejorar su calidad y seguridad. Peña-González *et al.* (2017) evaluaron el efecto de tres intensidades de ultrasonido (16, 28 y 90 W/cm²; 20 y 40 min; 0 y 7 d a 4 °C) y reportaron que el ultrasonido fue eficaz en el control de bacterias mesófilas y psicrófilas durante el almacenamiento a 4 °C cuando se utilizaron intensidades de 90 W/cm², mientras que el control del crecimiento de bacterias coliformes fue independiente de la intensidad del ultrasonido, siempre que el tiempo de sonicación sea prolongado.

Existe controversia sobre el uso del ultrasonido para el control bacteriano, Alarcón-Rojo *et al.* (2015) han reportado que es necesaria la combinación del ultrasonido con otros métodos físicos (calor o presión) y químicos (cloro, ácido

láctico, vino tinto) para lograr una mayor inactivación microbiana. Musavian *et al.* (2014) reportaron que la combinación de ultrasonido y vapor (Sonovapor a 90-94 °C/ 30-40 kHz, 10 s) redujo significativamente los conteos en canales de pollo contaminadas con *Campylobacter*. Por su parte, Piñón *et al.* (2015) aplicaron en carne de pollo un tratamiento combinado de ultrasonido (60 kHz, 40 W, almacenamiento por 7, 14 y 21 d) y 0.3% de aceite esencial de orégano, y observaron una disminución en los conteos de bacterias anaerobias, ácido lácticas y mesófilas durante el almacenamiento a 4 °C.

Se ha demostrado que la termosonicación (75 °C y 25 kHz, 0.33 W/g) mejora la inactivación térmica de esporas de *Clostridium perfringens* en muestras de carne bovina (Silva, 2015). Asimismo, en estudios realizados en filetes de salmón (Miks-Krajnik *et al.*, 2017) con aplicación de ultrasonido (45 kHz y 200 W, 1 min) combinado con luz UV y agua electrolizada ácida se observó una reducción en la cuenta viable total de *L. monocytogenes*. Lo anterior parece señalar que el ultrasonido tiene un efecto positivo en la inhibición del crecimiento bacteriano. Sin embargo, no todos los microorganismos reaccionan de la misma manera al tratamiento con ultrasonido. Por lo tanto, se deben estudiar los efectos sobre microorganismos específicos, especialmente aquellos que representan un riesgo en la industria cárnica.

Transferencia de masa

La carne se conserva comúnmente mediante la adición de NaCl. Este ingrediente también conduce a modificaciones estructurales dentro de la matriz de la carne que afectan el sabor, la jugosidad y la textura. Para un curado

efectivo, el NaCl debe difundirse en la matriz de la carne y alcanzar una concentración de equilibrio (Feiner, 2006). El marinado o curado asistido por ultrasonido se propone como alternativa al proceso tradicional con el fundamento de acelerar la transferencia de masa (Leal-Ramos *et al.*, 2011) y el aumento en la difusión de sal. Además, presenta la ventaja de conservar los atributos sensoriales de los productos curados o marinados (McDonnell *et al.*, 2014) y mejorar la distribución de los solutos (Ozuna *et al.*, 2013) con cambios positivos en la capacidad de retención de agua y con una menor pérdida de líquidos (Siró *et al.*, 2009). Los marinados de carne pueden contener sal en dos formas: secos o húmedos (Cárcel *et al.*, 2007).

De acuerdo con Vlahova-Vangelova *et al.* (2014) la carne está compuesta por una fase líquida que actúa como un solvente para iones de sal y proteínas solubles y una fase sólida que puede considerarse como porosa, capilar y coloidal. Dependiendo de la concentración de NaCl, en la fibra muscular se producen cambios microestructurales tales como expansión o contracción de la fibra dentro de la fase sólida. Durante la expansión miofibrilar el despliegue y la expansión de la red de filamentos conducen a la reorganización del agua extramiofibrilar e intramiofibrilar. El efecto del ultrasonido de potencia durante la marinación húmeda de la carne de cerdo depende de la intensidad de ultrasonido aplicada (Leal-Ramos *et al.*, 2011). El ultrasonido causa la formación de burbujas que golpean el tejido y lo pueden llevar a la microinyección de salmuera en la muestra. Este efecto puede ayudar a explicar el aumento de NaCl en la carne sonicada (Ozuna *et al.*, 2013). También se ha observado que tiempos

prolongados de aplicación causan desnaturalización de las proteínas (Siró *et al.*, 2009). En un estudio se compararon los efectos de tres tratamientos de curado utilizando una salmuera saturada de NaCl bajo curado estático, con agitación, y vacío, y con la aplicación de ultrasonido a baja frecuencia con intensidad variable.

No se encontraron diferencias significativas en la humedad y el contenido de NaCl en muestras tratadas en condiciones estáticas y agitación (Cárcel *et al.*, 2007). La transferencia de masa en el salado de carne dependió de umbrales de intensidad (39 y 51 W/cm²), y por encima de éstos, el transporte de masa fue proporcional a la intensidad del ultrasonido.

Al salar carne con ayuda del ultrasonido también se mejoran las propiedades de textura y la CRA de la carne (Siró *et al.*, 2009), mientras que el coeficiente de difusión incrementa exponencialmente con el aumento de la intensidad. McDonnell *et al.* (2014) lograron una reducción de hasta el 50% en los tiempos de procesamiento, sin efectos adversos en la calidad en la producción de jamones curados; infiriendo que el ultrasonido tiene potencial en la transformación de otros productos cárnicos. Contrariamente, el ultrasonido de baja intensidad en el marinado de carne de pollo (Smith, 2011) causa una menor absorción de agua, menor pérdida por goteo y menor rendimiento de cocinado de la carne, en comparación que con el marinado estático. Sin diferencia significativa en la dureza por efecto del ultrasonido. Contrario a lo anterior, Ozuna *et al.* (2013) observaron mayor blandura de la carne de cerdo marinada con ultrasonido. El tratamiento ultrasónico de baja intensidad y baja frecuencia y el empaque al vacío provocan cambios en la microestructura de carne marinada en cloruro de sodio (Siró *et al.*, 2009) y estos efectos dependen en gran medida de

la intensidad del tratamiento con ultrasonido. Algunos de los factores críticos en el procesamiento de alimentos merecen consideración porque el ultrasonido genera cambios rápidos en la temperatura y la presión (109 °C/s) en períodos de tiempo cortos. Además, la cavitación genera ondas de choque, que contribuyen a este efecto.

Los factores que modulan los efectos de la aplicación de ultrasonido incluyen el tiempo de exposición, el volumen de procesamiento y la composición de la muestra (Knorr *et al.*, 2004; Cárcel *et al.*, 2007). Se conoce que con intensidades bajas el campo ultrasónico producido puede ser irregular, es decir, en unas zonas puede haber más energía que en otras (Mulet *et al.*, 2003). Esto puede ocasionar que los resultados a veces no concuerden entre autores. Otros factores que pueden influir en los experimentos con carne son el tipo de músculo, la edad y la madurez de los animales, aparte de las características ultrasónicas empleadas.

Ordaz-Portillo *et al.* (2012) evaluaron el efecto del ultrasonido de potencia en la difusión de cloruro de sodio durante la marinación de carne de bovino. Ellos aplicaron ultrasonido en modo pulsado y continuo durante seis tiempos de tratamiento (10, 20, 30, 40, 50 y 60 min) y con dos soluciones de inmersión (5 y 10% de NaCl). Esos autores realizaron mediciones de concentración de sal en tres regiones de la rebanada de carne (externa, media e interna) y encontraron diferencias ($P < 0.05$) en la difusión de sal entre tratamientos e interacciones dobles significativas entre modo y región de la carne. La carne que presentó mayor difusión fue la que recibió 60 min de ultrasonido en modo continuo y con solución al 10% de NaCl. El ultrasonido en modo continuo presentó mayor

difusión de sal en todas las regiones de la carne, siendo la región exterior la de mayor concentración de sal y el incremento fue proporcional al tiempo de sonificado. Ellos concluyeron que el ultrasonido de potencia puede ser una alternativa para mejorar la transferencia de cloruro de sodio en el procesado de la carne. Por otra parte, Ozuna *et al.* (2013) también informaron una mayor difusión de NaCl cuando se aplicó ultrasonido (40 kHz, 37 W/L, 15-120 min) a diversas concentraciones de NaCl (50, 100, 150, 200, 240 y 280 g/L NaCl). Sin embargo, Cárcel *et al.* (2007) reportaron que en carne de cerdo se requiere una intensidad mínima de 51 W/cm² antes de que la concentración total de NaCl se incrementara y se observó un pequeño efecto de ultrasonido en la transferencia de masa a baja intensidad (9 W/cm²) pero un efecto significativo a una intensidad más alta (54.9 W/cm²).

En otro estudio (González-González *et al.*, 2017) se reportó que el marinado asistido con ultrasonido mejoró la transferencia de NaCl. A su vez, McDonnell *et al.* (2018) reportaron resultados similares en músculo *Longissimus thoracis et lumborum* de cerdo con tiempos de sonicación de 25, 32 y 40 min e intensidades de 4, 8, 13 y 19 W/cm². Estos resultados corroboraron la teoría de que a mayor intensidad de ultrasonido se aumenta la difusión de NaCl, lo cual se traduce en una distribución homogénea de la sal en la carne y resulta en una mejor textura.

CONCLUSIONES

La aplicación del ultrasonido de alta intensidad (UAI) tiene un efecto sobre las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la carne. El UAI aumenta la ternura al provocar cambios en estructura muscular; y puede mejorar las propiedades tecnológicas de la carne sin afectar negativamente otros parámetros de calidad. Asimismo, el UAI puede reducir el tiempo de curado y aumentar la transferencia de sal sin cambios significativos en otras características de la carne. El UAI tiene efectos microbiológicos al inactivar microorganismos dañando las paredes celulares y las membranas citoplásmicas y provocando efectos en componentes intracelulares. Los resultados aún no son concluyentes, se necesitan más estudios sobre el efecto del UAI sobre los parámetros de calidad de la carne antes de recomendar su implementación a escala industrial.

LITERATURA CITADA

- Afari, G. K., Y. C. Hung, H. King y A. Hu. 2016. Reduction of Escherichia coli O157: H7 and Salmonella Typhimurium DT 104 on fresh produce using an automated washer with near neutral electrolyzed (NEO) water and ultrasound. Food Contr. 63:246-254.
- Alarcón-Rojo, A. D., H. Janacua, J. C. Rodríguez, L. Paniwnyk, L. y T. J.Mason. 2015. Power ultrasound in meat processing. Meat Sci. 107:86–93.
- Anderson, D. M., R. E. Estell, A. L. Gonzalez, A. F. Cibils y L. A. Torell. 2015. Criollo cattle: heritage genetics for arid landscapes. Rangelands, 37:62-67.
- Ashokkumar, M. 2011. The characterization of acoustic cavitation bubbles an overview Ultras. Sonochem. 18:864-872.
- Ashokkumar, M. y T. J. Mason. 2007. Sonochemistry. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.
- Awad, T. S., H. A. Moharram, O. E. Shaltout, D. Asker y M. M. Youssef. 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: a review. Food Res. 48:410–427.
- Azmir, J., I. S. M. Zaidul, M. M. Rahman, K. M. Sharif, A. Mohamed y F. Sahena. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. J Food Eng. 117:426–436.
- Bhaskaracharya, R. S., E. Kentish y M. Ashokkumar. 2009. Selected applications of ultrasonics in food processing. Food Eng. 1:31–49.
- 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.
- Barekat, S. y N. Soltanizadeh. 2018. Effects of Ultrasound on Microstructure and Enzyme Penetration in Beef Longissimus lumborum Muscle, Food Bioprocess Technol. 11:680–693. doi:10.1007/s11947-017-2043-8.
- Bhat, R., C. N. S. B. Kamaruddin, M. T. Liong y A. A. Karim. 2011. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. Ultrason. Sonochem. 18:1295–1300.
- Bilek, S. E. y F. Turantaş. 2013. Decontamination efficiency of high power ultrasound in the fruit and vegetable industry, a review. Int. J. Food Microbiol. 166:55-162.
- Brewer, S. 2012. Quality measurements of beef. En: Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality. L. M. L. Nollet ed. Wiley-Blackwell, UK.
- Cao, S., Z. Hu, B. Pang, H. Wang, H. Xie y F. Wu. 2010. Effect of ultrasound treatment on fruit decay and quality maintenance in strawberry after harvest. Food Contr. 21:529–532.
- 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-López L. M., M. Huerta-Jiménez, I. A. García-Galicia y A. D. Alarcón-Rojo. 2019. Bacterial control and structural and physicochemical modification of bovine *longissimus dorsi* by ultrasound. Ultras. Sonochem. 58 (2019) 104608.
- Cárcel J. A., J. Benedito, J. Bon y A. Mulet. 2007. High intensity ultrasound effects on meat brining. Meat Sci. 76:611-619.
- Chandrapala, J. 2015. Low intensity ultrasound applications on food systems. Int. Food Res. 22:888–895.

- Chang, H. J., X. L. Xu, X. 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.
- Chang, H., Q. Wang, C. Tang y G. Zhou. 2015. Effects of ultrasound treatment on connective tissue collagen and meat quality of beef semitendinosus muscle. *J. Food Qual.* 38(4): 256–267.
- Chemat, F., F. Zill-e-Huma y M. K. Khan. 2011. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrason. Sonochem.* 18:813–835.
- Dainty, R. H., R. A. Edwards y C. M. Hibbard. 1985. Time course of volatile compounds formation during refrigerated storage of naturally contaminated beef in air. *J. Appl. Bacteriol.* 59:303-309.
- De Alba, J. 2011. *El libro de los bovinos criollos de América*. México: Biblioteca Básica Agricultura (BBA). México, DF.
- de Lima Alves, L., M. S. da Silva, D. R. M. Flores, D. R. Athayde, A. R. Ruviaro, D. da Silva Brum, D y A. J. Cichoski, 2017. Effect of ultrasound on the physicochemical and microbiological characteristics of Italian salami. *Food Res. Int.* 106:363–373.
- Dolatowski, Z., D. M. Stasiak y A. Latoch. 2000. Effect of ultrasound processing of meat before freezing on its texture after thawing. *Electr. J. Polish. Agric. Univer.* 3(2). <http://www.eipau.media.pl> Consultado 12 febrero 2018.
- Doulgeraki, A. I., D. Ercolini, F. Villani y G. J. E. Nychas. 2012. Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 157:130–141.

- FAO. 2015. The Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. In Scherf, BD. and Pilling, D. (ed). FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments. Rome, Italy.
- Feiner, G. 2006. Meat Products Handbook – Practical Science and Technology, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, U.K.
- Feng, H. y W. Yang. 2011. Ultrasonic processing. Nonthermal Processing Technologies for Food. Blackwell Publishing, U.S.A.
- Ferrario, M., S. M. Alzamora y S. Guerrero. 2015. Study of the inactivation of spoilage microorganisms in apple juice by pulsed light and ultrasound. Food Microbiol. 46:635–642.
- Filomena-Ambrosio, A., M. X. Quintanilla-Carvajal, M. X., I. Hernando, M. Hernandez-Carrion e I. Sotelo-Diaz. 2016. Changes of the water-holding capacity and microstructure of panga and tilapia surimi gels using different stabilizers and processing methods. Food Sci. Technol. Int. 22:68–78.
- Forghani, F., M. Eskandari y D. H. Oh. 2015. Application of slightly acidic electrolyzed water and ultrasound for microbial decontamination of kashk. Food Sci. Biotechnol. 24:1011-1016
- Garcia-Galicia I. A., M. Huerta-Jimenez, C. Morales-Piñon, S. Diaz-Almanza, L. M. Carrillo-Lopez, R. Reyes-Villagrana, C. Estep y A. D. Alarcon-Rojo. 2020. The impact of ultrasound and vacuum pack on quality properties of beef after modified atmosphere on display. J. Food Process Eng. 2020;43:e13044.
- Gill, C. O., 1996. Extending the storage life of raw chilled meats. Meat Sci. 43:99-109.

- Ginja, C., L. T. Gama, O. Cortés, I. M. Burriel, J. L. Vega-Pla, C. Penedo y A. Martínez. 2019. The genetic ancestry of American Creole cattle inferred from uniparental and autosomal genetic markers. *Scie Rep.* 9:1-16.
- Gómez-Salazar, J. A., D. A. Ochoa-Montes, A. Cerón-García, C. Ozuna y M. Sosa-Morales. 2018. Effect of acid marination assisted by power ultrasound on the quality of rabbit meat. *J. Food Qual.* 2018:1-6.
- González-González, L., L. Luna-Rodríguez, L. M. Carrillo-López, A. D. Alarcón-Rojo, I. García-Galicia y R. Reyes-Villagrana. 2017. Ultrasound as an Alternative to Conventional Marination: Acceptability and Mass Transfer. *J. Food Qual.* 8675720:8.
- Gonzalez-Gonzalez, L., A. D. Alarcon-Rojo, L. Carrillo-Lopez, I. Garcia-Galicia, M. Huerta-Jimenez y L. Paniwnyk. 2020. Does ultrasound equally improve the quality of beef? An insight into longissimus lumborum, infraspinatus and cleidooccipitalis. *Meat Science.* 160(2020)107963.
- 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.
- Huff-Lonergan, E. y S. M. Lonergan. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.* 71:194–204.
- Hunt, M. C. 2012. AMSA: meat color measurement guidelines. In *American Meat Science Association*. Champaign, Illinois USA.
- Istrati, D. 2008. The influence of enzymatic tenderization with papain on functional properties of adult beef. *J. Agroaliment. Proc. Technol.* 14:140–146.

- Jay, J. M. 2000. Modern Food Microbiology. 5a ed. Aspen. EUA.
- 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. 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., 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.
- Karamucki, T., M. Jakubowska, A. Rybarczyk, R. Szaruga, J. Gardzielewska y W. Natalczyk-Szymkowska. 2006. Relationship between CIE L*a*b* and CIE L*C*h scale colour parameters determined when applying illuminant C and observer 2° and illuminant d65 and observer 10° and proximate chemical composition and quality traits of porcine longissimus lumborum muscle, *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 15:129-135.
- Kasaai, M. R. 2013. Input power-mechanism relationship for ultrasonic irradiation: food and polymer applications, *Nat. Sci.* 5:14–22.
- Kek, S. P., N. L. Chin y Y. A. Yusof. 2013. Direct and indirect power ultrasound assisted pre-osmotic treatments in convective drying of guava slices. *Food Bioprod. Process.* 91:495–506.
- Knorr, D., M. Zenker, V. Heinz y L. Dong-Un. 2004. Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends Food Sci. Technol.* 15:261-266.

- Lawrie, R. y D. Ledward. 2006. *Lawrie's meat science* 7^a ed. Editorial Woodhead Publishing Limited. London, U.K.
- Leal-Ramos, M. Y., A. D. Alarcón-Rojo, T. J. Mason, L. Paniwnyk y M. Alarjah. 2011. Ultrasound-enhanced mass transfer in Halal compared with non-Halal chicken. *J. Sci. Food Agric.* 91:130-133.
- Lindahl, G., K. Lundström y E. Tornberg. 2001. Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Sci.* 59: 141–151.
- Luo, K. y D. H. Oh. 2015. Synergistic effect of slightly acidic electrolyzed water and ultrasound at mild heat temperature in microbial reduction and shelf life. *J. Microbiol. Biotechnol.* 25:1502-1509
- MacDougall, D. B. 1982. Changes in the colour and opacity of meat. *Food Chem.* 9:75–88.
- Mancini, R. A. y M. C. Hunt. 2005. Current research in meat color. *Meat Sci.* 71:100–121.
- Mansur, A. R. y D. H. Oh. 2015. Combined effects of thermosonication and slightly acidic electrolyzed water on the microbial quality and shelf life extension of fresh cut kale during refrigeration storage. *Food Microbiol.* 51:154-162.
- McClements, D. J. 1995. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends Food Sci. Technol.* 6:293–299.
- McDonnell, C. K., J. G. Lyng, J. M. Arimi y P. Allen. 2014. The acceleration of pork curing by power ultrasound: A pilot-scale production. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 26:191–198.

- McDonnell, C. K., P. Allen, G. Duane, C. Morin, E. Casey y J. G. Lyng. 2018. One directional modelling to assess the mechanistic actions of power ultrasound on NaCl diffusion in pork. *Ultrason Sonochem.* 40:206–212.
- Miks-Krajnik, M., L. Feng, W. Bang W y H. G. Yuk. 2017. Inactivation of *Listeria monocytogenes* and natural microbiota on raw salmon fillets using acidic electrolyzed water, ultraviolet light or/and ultrasounds. *Food Cont.* 74:54-60.
- Monsón, F., C. Sañudo e I. Sierra. 2005. Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. *Meat Sci.* 71:471–479.
- Morild, R. K., P. Christiansen, A. H. Sørensen, U. Nonboe y S. Aabo, S. 2011. Inactivation of pathogens on pork by steam ultrasound treatment. *J. Food Prot.* 5:769–775.
- Mulet, A., J. Cárcel, J. Benedito, C. Rosselló y S. Simal. 2003. Ultrasonic mass transfer enhancement in food processing. En *Transport Phenomena in Food Processing*. Welti-Chanes, J., J. F. Vélez-Ruiz, y G. V. Barbosa-Cánovas eds. CRC Press LLC, Florida, USA.
- 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.
- Ninoles, L., 2010. Ultrasonic assessment of the melting behaviour in fat from Iberian dry-cured hams. *Meat Sci.* 85:26-32.

- Nowak, K. W., E. Ropelewska, A. E. D. Bekhit y M. Markowski, M. 2017. Ultrasound Applications in the Meat Industry. En *Advances in Meat Processing*. Bekhit, A. E.-D., Ed. CRC Press. Boca Raton, Florida, U.S.A.
- Nychas, G. E. y E. H. Drosinos. 1999. Meat and poultry/spoilage of meat. En: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Richard K., Ed. Elsevier, New York, U.S.A.
- O'Sullivan, M. G., D. V. Byrne y M. Martens. 2003. Evaluation of pork colour: Sensory colour assessment using trained and untrained sensory panellists. *Meat Sci.* 63:119–129.
- Obuz, E., M. E. Dikeman y T. M. Loughin. 2003. Effects of cooking method, reheating, holding time, and holding temperatura on beef *Longissimus lumborum* and *Biceps femoris* tenderness. *Meat Sci* 65:841–851.
- Ojha, K.S., D. F. Keenan, A. Bright, J. P. Kerry y B. K. Tiwari. 2016. Ultrasound assisted diffusion of sodium salt replacer and effect on physicochemical properties of pork meat. *Int. J. Food Sci. Technol.* 51:37–45.
- 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.
- Ordaz-Portillo, E .B., A. D. Alarcón-Rojo y C. Valenzuela-González. 2012. Diffusion of sodium chloride in bovine meat treated with power ultrasound in continuous and pulse modes. Pág. 56. En: American Society of Animal Science Annual Meeting. Phoenix, Az.
- 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.
- Patist, A. y D. Bates. 2008. Ultrasonic innovation in the food industry from the laboratory to the industrial production. *Innovative Food Sci. Emerg. Technol.* 9:147-156.
- Pauler, C. M., J. Isselstein, T. Braunbeck y M. K. Schneider. 2019. Influence of Highland and production-oriented cattle breeds on pasture vegetation: A pairwise assessment across broad environmental gradients. *Agriculture, Agric Ecosyst Environ.* 284,106585.
- Peña-Gonzalez, E.M., A. D. Alarcon-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.
- Pérez Dubé, D. y G. Andújar Robles. 2000. Cambios de coloración de los productos cárnicos. *Rev Cub. Aliment. Nutr.* 14:114–23.
- Pin, C., G. Garcia de Fernando y J. A. Ordoñez. 2002. Effect of modified atmosphere composition on the metabolism of glucose by *Brochothrix thermosphacta*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:4441-4447.
- Piñon, M. I., A. D. Alarcón-Rojo, A. Rentería, G. Méndez y H. Janacua-Vidales. 2015. Reduction of microorganisms in marinated poultry breast using oregano essential oil and power ultrasound. *Acta Alim.* 44:527-533.
- Piñon, M., A. D. Alarcon-Rojo A.D., L. Paniwnyk, T. Mason, A. Renteria y L. Luna. 2019. Ultrasound for improving the preservation of chicken meat. *Food Sci. Technol. Campinas.* 39(Suppl. 1):129-135.
- Pohlman, F.W., M. E. Dikerman y D. H. Kropf. 1997. Effects of high intensity ultrasound treatment, storage time and cooking method on shear, sensory, instrumental color and cooking properties of packaged and unpackaged beef *Pectoralis* muscle.

- Meat Sci. 46:89-100.
- Rajha, H. N., N. Boussetta, N. Louka, R. G. Maroun y E. Vorobiev. 2015. Effect of alternative physical pretreatments (pulsed electric field, high voltage electrical discharges and ultrasound) on the dead-end ultrafiltration of vine-shoot extracts. Sep. Purif. Technol. 146:243–251.
- Saleem, R. 2016. Effect of low frequency ultrasonication on biochemical and structural properties of chicken actomyosin. Food Chem. 205:43–51.
- Saleem, R. y R. Ahmad. 2016. Effect of ultrasonication on secondary structure and heat induced gelation of chicken myofibrils. J. Food Sci. Tech. 5:3340–3348.
- Sancheti, S. V. y P. R. Gogate. 2017. A review of engineering aspects of intensification of chemical synthesis using ultrasound. Ultrason Sonochem. 36:527–543.
- Scasta, J. D., D. L. Lalman y L. Henderson. 2016. Drought mitigation for grazing operations: matching the animal to the environment. Rangelands. 38:204-210.
- Serraino, A., L. Bardasi, R. Riu, V. Pizzamiglio, G. Liuzzo, G., Galletti, F. Giacometti y G. Meriardi. 2012. Visual evaluation of cattle cleanliness and correlation to carcass microbial contamination during slaughtering. Meat Sci. 90:502–506.
- 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.
- Silva, F. 2015. Use of power ultrasound to enhance the thermal inactivation of *Clostridium perfringens* spores in beef slurry. Int. J. Food Microbiol. 206:17-23.
- Siró, I., C. S. Vén, C. S. Balla, G. Jonás, I. Zeke y L. Friedrich. 2009. Application of an ultrasonic assisted curing technique for improving the diffusion of sodium chloride in porcine meat. J. Food Eng. 91:353–362.

- Smith, D. P. 2011. Effect of ultrasonic marination on broiler breast meat quality and *Salmonella* contamination. *Int. J. Poult. Sci.* 10:757-759.
- Sofos, J. N. 2008. Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Sci.* 78:3–13.
- Soria, A. C. y M. Villamiel. 2010. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 21:323–331.
- 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.
- Stadnik, J., Z. J. Dolatowski y H. M. Baranowska. 2008. Effect of ultrasound treatment on water holding properties and microstructure of beef (m. *Semimembranosus*) during ageing. *LWT - Food Sci. Technol.* 41:2151-2158.
- Stanbridge, L. H. y A. R. Davies. 1998. The microbiology of chill-stored meat. En *Microbiology of Meat and Poultry*. A. Davies y R. Board, eds. Blackie Academic & Professional. London, U.K.
- 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.
- Villaseñor González, F., J. D. D. L. Torre Sánchez, G. Martínez Velázquez, H. Álvarez Gallardo, S. Pérez Reynozo, J. A. Palacios Fránquez y M. Montaña Bermúdez. 2017. Caracterización de la respuesta ovárica a la superovulación en bovino Criollo Coreño utilizando dosis reducidas de FSH. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 8:225-232.
- Vlahova-Vangelova, D. B., S. Abjanova y S. G. Dragoev. 2014. Influence of the marinating type on the morphological and sensory properties of horsemeat. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 13:403–411.

- Wang, A., D. Kang, W. Zhang, C. Zhang, Y. Zou, Y. 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., Y. Hu, J. Wang, Z. Liu, G. Yang y G. Geng. 2011. Ultrasound assisted solvent extraction of swainsonine from *Oxytropis ochrocephala* Bunge. *J. Med. Plant Res.* 5:890–894.
- Warriss, P. D. 2010. *Meat Science: An Introductory Text*. CABI Publishing, Wallingford, U.K.
- Xiong, G., L. Zhang, W. Zhan y J. Wu. 2012. Influence of ultrasound and proteolytic enzyme inhibitors on muscle degradation, tenderness, and cooking loss of hens during aging. *Czech J. Food Sci.* 30:195–205.
- Xiong, 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.
- Zhou, G. H., X. L. Xu y Y. Liu. 2012. Preservation technologies for fresh meat a review. *Meat Sci.* 86:119–128.

**ESTUDIO I. ANÁLISIS MULTIVARIADO INTEGRADO COMO HERRAMIENTA
PARA EVALUAR LOS EFECTOS DEL ULTRASONIDO SOBRE LA CALIDAD
DE LA CARNE**

RESUMEN

ANÁLISIS MULTIVARIADO INTEGRADO COMO HERRAMIENTA PARA EVALUAR LOS EFECTOS DEL ULTRASONIDO SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE

POR:

M.C. REYES OMARO CARAVEO SUÁREZ

Doctorado in Philosophia en Producción Animal

Universidad Autónoma de Chihuahua

Facultad de Zootecnia y Ecología

Secretaría de Investigación y Posgrado

Presidente: Ph. D Alma Delia Alarcón Rojo

Existe una importante controversia sobre el efecto del ultrasonido de alta intensidad (UAI) sobre las propiedades fisicoquímicas de la carne de bovino. Este estudio tuvo como objetivo analizar los datos fisicoquímicos de varios estudios para determinar cuál era el tratamiento ultrasónico más efectivo para mejorar la calidad de la carne. Se aplicó análisis multivariado a los datos para describir las principales características atribuidas a la aplicación del UAI, al empaquetado y al almacenamiento de carne de bovino. Se construyó un conjunto de datos que contiene 104 registros individuales de parámetros de color (L^* , a^* , b^* , C^* y Hue^*), pérdida por goteo, capacidad de retención de agua y esfuerzo de

corte de los músculos de la carne bajo diferentes tratamientos (UAI, empaquetado, almacenamiento). Todas las variables evaluadas presentaron cambios debido al efecto de los tratamientos. El análisis de conglomerados mostró la formación de 12 grupos con diferencias significativas ($p < 0.05$), entre ellos, en el análisis de MANOVA.

Cada variable tuvo un papel importante en la explicación de los datos y se concluyó que todas las variables deben ser consideradas en futuros estudios sobre el efecto de UAI en la calidad de la carne. El análisis multivariado indicó que la carne de bovino sonicada a 16-28 W/cm² durante 20-40 min y empaquetada en atmósfera modificada presentó la mejor calidad fisicoquímica. Este estudio confirmó la eficacia de las técnicas estadísticas multivariadas en la evaluación de la calidad de la carne de bovino y en la indicación de los parámetros del UAI asociados a la calidad tecnológica de la carne.

ABSTRACT

INTEGRATED MULTIVARIATE ANALYSIS AS A TOOL TO EVALUATE EFFECTS OF ULTRASOUND ON BEEF QUALITY

BY:

M.C REYES OMARO CARAVEO SUÁREZ

An important controversy in the effect of high-intensity ultrasound (UAI) on beef physicochemical properties exists among studies. This study aimed to analyze physicochemical data from several studies in order to determine the most effective UAI treatment for the quality improvement of meat. Multivariate analysis was applied to data to describe the main characteristics attributed to the application of UAI, packaging and storage of beef. A dataset containing 104 individual records of color parameters (L^* , a^* , b^* , C^* and Hue^*), drip loss, water holding capacity and shear force from beef muscles under different treatments (UAI, packaging, storage) was constructed. All the variables evaluated presented changes due to the effect of treatments. The cluster analysis showed the formation of 12 groups with significant differences ($P < 0.05$) among them in the MANOVA analysis. Each variable had an important role in explaining the data and all variables should be considered in future studies about UAI effect on meat quality. Multivariate analysis indicated that beef sonicated at 16-28 W/cm^2 for 20-40 min and packed in modified atmosphere had the best physicochemical quality. This study confirmed the efficacy of multivariate statistical techniques in assessing the quality of beef and in indicating the UAI parameters associated with the technological quality of the product.

INTRODUCCIÓN

Los métodos físicos no invasivos de conservación de la carne han adquirido importancia en los últimos años ya que prometen extender la vida útil, mejorar y hacer más eficiente el procesamiento, inhibir la proliferación de microorganismos indeseables, y mejorar las propiedades nutritivas y sensoriales de la carne. Las tecnologías emergentes han sido reconocidas por sus aplicaciones potenciales en la industria alimentaria. Sin embargo, su estandarización para la implementación industrial aún debe ser determinada. Una de las técnicas potenciales para el procesamiento de alimentos es el ultrasonido de potencia o de alta intensidad (UAI). El ultrasonido se define como ondas sonoras con frecuencias superiores al umbral de audición humana (> 16-20 kHz).

El ultrasonido se puede clasificar como ultrasonido de baja intensidad que se caracteriza por usar frecuencias superiores a 100 kHz e intensidades inferiores a 1 W/cm^2 , mientras que el UAI se caracteriza por usar frecuencias entre 20 y 500 kHz e intensidades superiores a 1 W/cm^2 (Arvanitoyannis *et al.*, 2017). La aplicación de UAI genera ondas sonoras que provocan la compresión y rarefacción de las partículas en el medio, induciendo la formación de burbujas. La temperatura y la presión aumentan dentro de las burbujas hasta que implosionan, causando cavitación acústica (Arvanitoyannis *et al.*, 2017). En la última década, se han estudiado ampliamente los efectos de UAI solo o en combinación con otras técnicas de procesamiento sobre la calidad de la carne (Alarcon-Rojo *et al.*, 2019). Las modificaciones más relevantes se basan en mejoras en las propiedades funcionales de las proteínas, vida útil, sensibilidad, transferencia de masa, congelación, descongelación, cocción e inactivación de

microorganismos (Bilek y Turantaş, 2013). La carne es un alimento de naturaleza multivariada y la calidad del producto final es el resultado tanto de atributos sensoriales como instrumentales (Los *et al.*, 2014).

La combinación de diseño experimental y análisis de bases de datos utilizando técnicas multivariadas puede ser una herramienta útil para estandarizar las técnicas de procesamiento. El análisis multivariado se caracteriza por la precisión en la relación entre las variables de interés en un estudio y puede utilizarse cuando se realizan múltiples mediciones a diferentes individuos u objetos en una o más muestras.

El análisis de componentes principales (ACP) reduce el número de variables de un conjunto de datos a un número menor de factores o componentes, preservando al mismo tiempo toda la información posible. Los componentes están ordenados por la cantidad de varianza original que describen. El CPA calcula la descomposición del valor propio de la matriz de covarianza, generalmente después de centrar los datos en la media de cada atributo. De esta manera, conjuntos de datos complejos pueden ser fácilmente analizados e interpretados (Kumar *et al.*, 2013).

El análisis de grupos o clúster es una técnica estadística multivariada que busca formar grupos de unidades, a partir de la estimación de distancias multivariadas entre ellas, tratando de lograr la máxima homogeneidad dentro de cada grupo y la mayor diferenciación entre grupos (Drab y Daszykowski, 2014).

El análisis multivariado de la varianza (MANOVA) es una extensión del análisis univariado de la varianza (ANOVA), para cubrir casos en los que hay más de una variable dependiente que no puede o no quiere ser analizada de forma aislada. Esta técnica también ayuda a identificar las interacciones entre las variables dependientes y su grado de asociación con las independientes (Rencher, 2002). Finalmente, el análisis discriminante es un procedimiento estadístico que clasifica a individuos desconocidos y la probabilidad de su clasificación en un determinado grupo (Rao, 1973). Este análisis desarrolla la combinación lineal de variables independientes que discriminarán entre las categorías de la variable dependiente.

Se han realizado numerosos estudios para investigar el efecto del UAI en la calidad de la carne (Jayasooriya *et al.*, 2007; Stadnik *et al.*, 2008; Caraveo *et al.*, 2015; Kang *et al.*, 2017; Peña-González *et al.*, 2017; Zou *et al.*, 2018; Inguglia *et al.*, 2019; Pinton *et al.*, 2019; Garcia-Galicia *et al.*, 2020; Gonzalez-Gonzalez *et al.*, 2020). Sin embargo, estos estudios utilizan técnicas de análisis univariadas, que pueden ser limitadas ya que en la mayoría de los casos, no consideran las correlaciones entre las variables y los factores inherentes a los experimentos.

Como resultado, existe una importante controversia en el efecto del UAI sobre las propiedades fisicoquímicas de la carne de vacuno entre los estudios. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue aplicar diversas técnicas multivariadas a un conjunto de datos de estudios previos con el fin de determinar que tratamiento de UAI es más eficaz para la mejora de la calidad tecnológica de la

carne y las propiedades fisicoquímicas. Este estudio contribuirá a la estandarización y ampliación de la aplicación del UAI a nivel industrial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen de los Datos

Las bases de datos fueron tomadas de los resultados de cuatro estudios previos realizados en la Facultad de Ciencias Animales de la Universidad Autónoma de Chihuahua (García-Galicia *et al.*, 2020; González-González *et al.*, 2020) y tesis de estudiantes de la misma Facultad. El cuadro 1 muestra la descripción de los tratamientos aplicados en los experimentos. La metodología para la determinación de las propiedades fisicoquímicas de la carne de bovino se describe en García-Galicia *et al.* (2020) y González-González *et al.* (2020).

Análisis Estadístico

Se utilizó un modelo estadístico multivariado integrado para el análisis de datos y se compuso por cuatro análisis multivariable aplicados a las variables de calidad de la carne (L^* , a^* , b^* , C^* , ángulo HUE, pérdida por goteo, capacidad de retención de agua y esfuerzo de corte), a las cuales se sometieron a análisis de Componentes Principales (CPA), análisis de grupos o clúster, análisis multivariado de varianza (MANOVA) y análisis discriminante.

Todas las variables de este estudio fueron evaluadas por los cuatro métodos de análisis multivariable y se realizaron utilizando el programa estadístico SAS 9.4 (2004), MINITAB 18 (2019) y The Unscrambler X 10.4.

Inicialmente, se aplicó el CPA para analizar estructuras de correlaciones entre características y eliminar aquellas que contribuyen ligeramente a la variación

grupal de individuos evaluados. Así, el método CPA consiste en transformar un conjunto de variables en un nuevo conjunto de variables no correlacionadas entre sí, y dispuestas en un orden de varianza decreciente, que los primeros componentes principales tienen la mayor variabilidad de los datos originales (Jackson, 1991). Dado que las variables originales tienen diferentes unidades de medida, era necesario estandarizarlas para estimar los componentes principales. Además, los coeficientes de los componentes principales son indicadores de la magnitud de la correlación entre las variables estandarizadas y los componentes principales. A continuación, los datos se sometieron a un análisis de agrupación utilizando el método de agrupamiento jerárquico aglomerante de Ward o el análisis de clúster. El número de grupos se determinó sobre la base del coeficiente de determinación de los criterios pseudo CCC, pseudo F y pseudo T^2 .

El análisis de conglomerados busca la formación de grupos con propiedades homogéneas y heterogéneas entre ellos. Se analizaron los grupos homogéneos (con las distancias multivariadas más pequeñas), así como las diferencias entre ellos, que deberían ser lo más altas posible (Härdle y Simar, 2012). Posteriormente, se realizó el análisis MANOVA para estimar las diferencias multivariadas entre los grupos de tratamiento formados. Además, se utilizó un análisis discriminante para clasificar las observaciones en dos o más grupos sobre la base de una combinación lineal de variables predictivas que proporcionan la mejor discriminación entre los grupos (Rao, 1973). Para decidir las variables a incluir en el análisis discriminante, se utilizó el procedimiento STEPDISC (SAS, 2004) como técnica para seleccionar el subconjunto de variables con mayor poder discriminante entre grupos.

Cuadro 1. Caracterización de tratamientos aplicados en experimentos de ultrasonido (US)

Experimento	Descripción	Tiempo US (min)	Intensidad (W/cm ²)	Empaque	Músculo	Almac. (Días)
1	UAI y marinado a 5 y 10% NaCl	60, 90	90	Vacío	<i>L. dorsi</i>	15
2	UAI y maduración húmeda	40	90	Vacío	<i>L. lumorum</i>	5-10
3	UAI	20, 40	16, 28, 90	Vacío	<i>L. dorsi</i>	0-7
4	UAI	30, 40	16, 28	Vacío y/o atmósfera modificada	<i>L. lumorum</i> , <i>Semitendinosus</i>	1-6

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de Componentes Principales (ACP)

Se aplicó un análisis multivariado a los datos para describir las principales características atribuidas a la aplicación de UAI, envasado y almacenamiento de carne de vacuno. El ACP de las Gráficas 1 y 2 muestran una representación de las muestras según los análisis fisicoquímicos. El primer componente principal (CP1) explicó el 43.1% de la varianza y el segundo componente principal (CP2) explicó el 24.2% de la varianza. Así, la mayor variabilidad se concentró en CP1 y CP2, que en conjunto explicaron el 67.3% de la varianza de los datos. El CP1 incluyó las muestras con valores más altos entre todas las variables evaluadas (Gráfica 1).

En cuanto al CP1, las variables con una contribución significativa fueron: tendencia al amarillo (b^*) ($r = 0.514$), saturación (C^*) ($r = 0.495$) y tendencia al rojo (a^*) ($r = 0.453$). En el caso del CP2: fueron la luminosidad (L^*) ($r = 0.548$), el ángulo de tono HUE^* ($r = 0.413$) y la pérdida por goteo (PG) ($r = 0.318$). El ACP fue importante para la selección de variables porque permitió la identificación de variables que más contribuyen a la variación total de la calidad de la carne, que fueron L^* , a^* , b^* , C^* , Hue^* y PG.

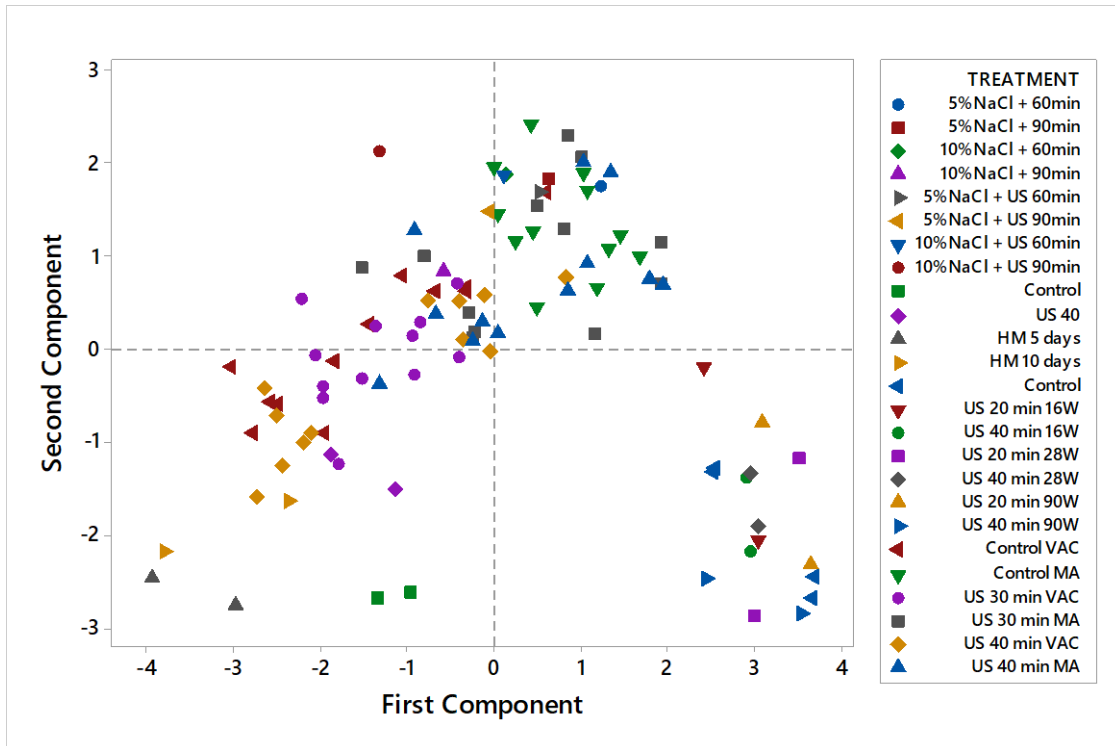
La Gráfica 2 muestra la posición gráfica de las muestras y la proyección de las características analizadas. Las muestras con los valores más altos con respecto a las propiedades fisicoquímicas mostraron valores altos de L^* , Hue^* , b^* , $Chroma^*$, a^* , y esfuerzo de corte (EC).

En el lado opuesto, en el 1er cuadrante, las muestras se colocaron en el grupo 1 del ACP, el cual tuvo puntajes más bajos en PG y capacidad de retención de agua (CRA).

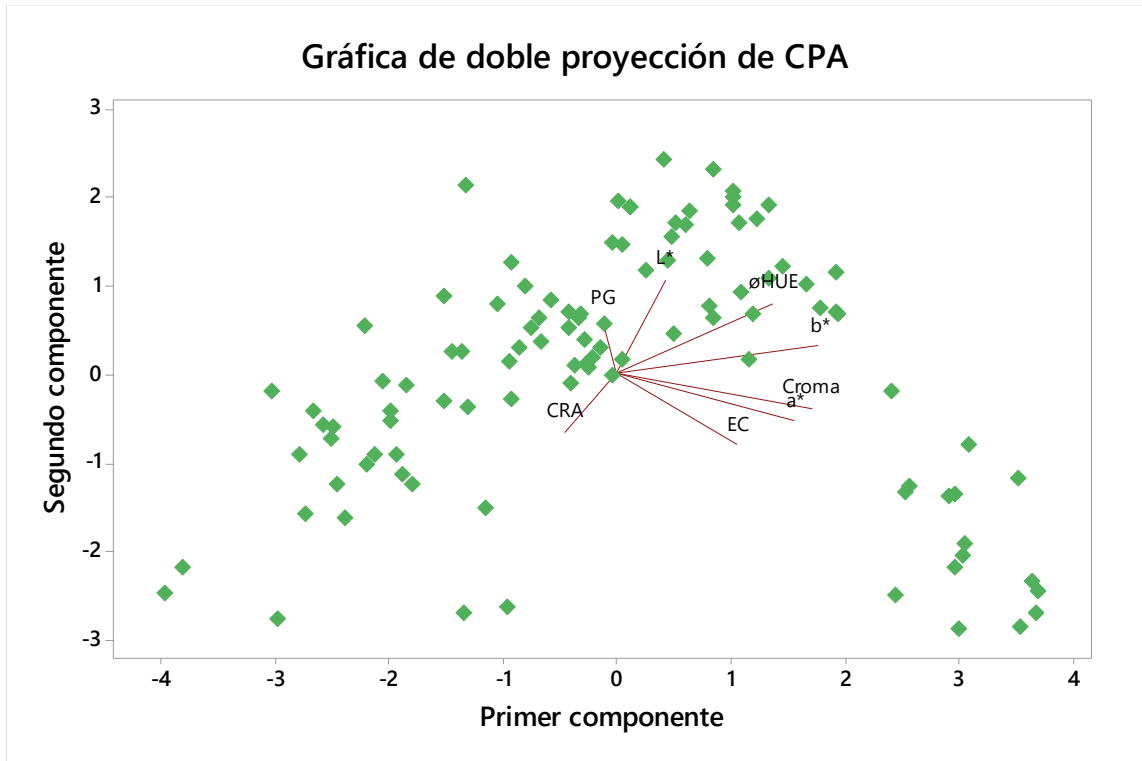
El ACP proporciona información fiable para la toma de decisiones sobre qué tratamiento ecográfico ofrece los mejores parámetros fisicoquímicos, basado en una explicación de varianza aceptable (67.3%). Los tratamientos dentro del CP1 fueron aquellos con UAI durante 30 y 40 min y envasados en una atmósfera modificada. Estos resultados concuerdan con los encontrados en el MANOVA y la prueba estandarizada de Tukey a grupos formados en el análisis de clúster. Estos hallazgos se explican con más detalle en la sección MANOVA.

Análisis de Grupos o Conglomerados (Clúster)

El análisis de conglomerados se utilizó para categorizar los tratamientos cárnicos en grupos o conglomerados homogéneos, según sus variables fisicoquímicas. La Gráfica 3 muestra el dendrograma por análisis de clúster. El coeficiente de determinación (R^2) = 0.86 se consideró aceptable para el número de tratamientos en los experimentos. Los valores del criterio de agrupamiento cúbico (CCC), pseudo estadístico F y pseudo estadístico T^2 se utilizaron para determinar el número de grupos además del dendrograma. El análisis de conglomerados evidenció doce grupos para la carne tratada, considerando sus similitudes. El número de tratamientos en los grupos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 fueron 16, 6, 6, 18, 13, 7, 7, 9, 6, 4, 4 y 8, respectivamente. No hubo tratamientos no asignados.

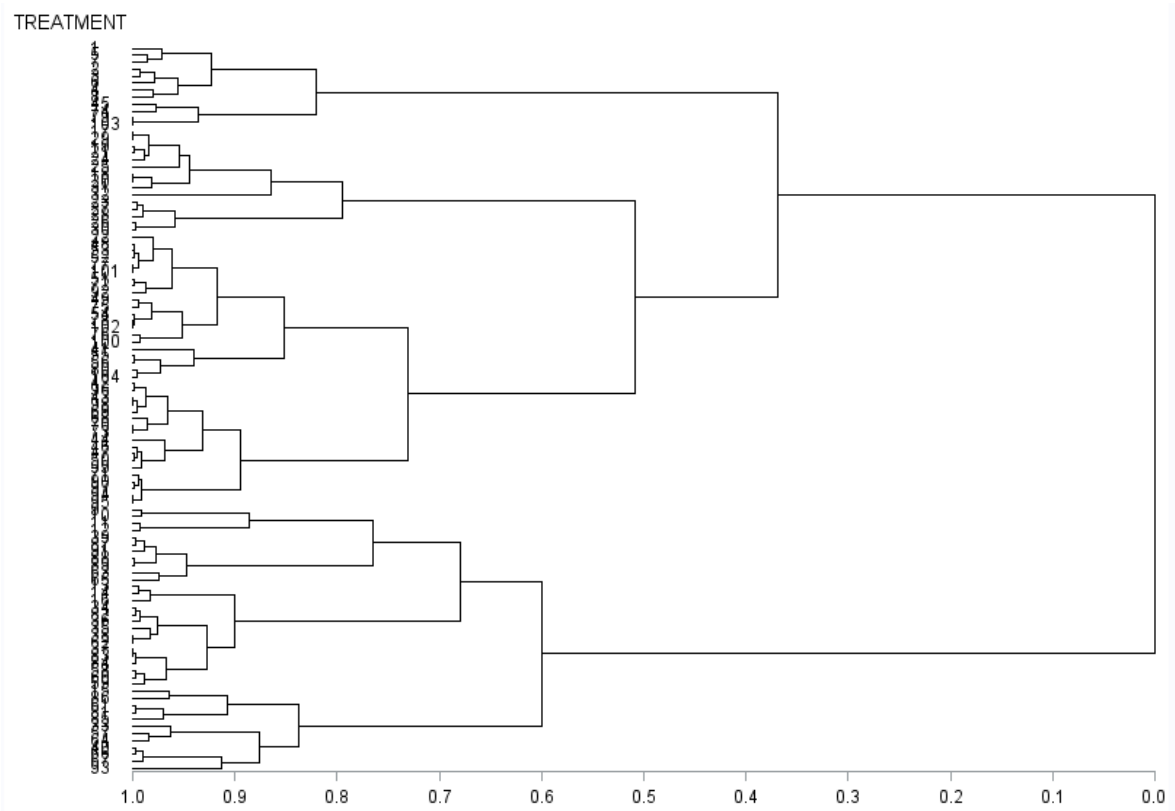


Gráfica 1. ACP aplicado a las propiedades fisicoquímicas de la distribución de los tratamientos evaluados.



Gráfica 2. Gráfico de posición de las muestras y proyección de las variables analizadas.

CRA=capacidad de retención de agua; PG=pérdida por goteo; L*=luminosidad;
HUE= ángulo de tono; b*= tendencia al amarillo; Cromo=saturación; a*=tendencia al
rojo; EC=esfuerzo de corte.



Gráfica 3. Dendrograma obtenido para variables de calidad de la carne.

La caracterización de cada grupo se detalla en el Cuadro 2. En este estudio se utilizó el análisis de clúster para la clasificación automática de datos como punto de referencia para la estandarización de tratamientos en función de la variable de interés a mejorar. Como el análisis de conglomerados por sí solo no arroja una clasificación significativa de los datos, se realizó una validación utilizando técnicas inferenciales complementarias como MANOVA. Esto, para ofrecer valores de probabilidad de error en la clasificación y estimar la probabilidad de que nuevas observaciones serán asignadas a los grupos formados.

Análisis Multivariado de la Varianza (MANOVA) y Caracterización de Grupos de Tratamiento

Cada variable de respuesta fue diferente ($P < 0.0001$) entre clústeres, al realizar el ANOVA (Cuadros 3 y 4). Adicionalmente, el análisis MANOVA reveló diferencias multivariantes significativas entre grupos ($P < 0.0001$) y contrastes ortogonales elevados ($P < 0.0001$). Por lo tanto, cualquier tratamiento de UAI solo, o en combinación con otros factores, generó cambios en las propiedades fisicoquímicas de la carne de bovino. El Cuadro 3 muestra la prueba de Tukey para las características del color de la carne. Los tratamientos del grupo 2, 6 y 5 tuvieron los valores L^* más altos, mientras que el grupo 3, 8 y 5 tuvieron los valores a^* , b^* y C^* más altos. El cluster 11 contiene los tratamientos con los valores más bajos de L^* y a^* , mientras que el cluster 10 tuvo tratamientos con los valores más bajos de b^* , C^* y Hue^* . Los tratamientos de estos dos grupos (10 y 11) no fueron favorables para la calidad de

Cuadro 2. Descripción de los clústeres formados en el análisis de grupos

Clúster	Descripción	US (min)	Intensidad (W/cm ²)	Empaquetado	Músculo	Almacenamiento (días)
1	UAI y maduración húmeda	0, 20, 40	0, 16, 28	Vacío/atmósfera modificada	<i>L. dorsi</i>	3,6
2	UAI	0, 40, 60	0, 16, 28	Atmósfera modificada	<i>Semitendinosus</i>	1,4,5
3	UAI	0, 20, 40	0, 16, 28, 90	Vacío	<i>L. dorsi</i>	7
4	UAI	0, 20, 40	0, 16, 28	Vacío/atmósfera modificada	<i>L. dorsi,</i> <i>Semitendinosus</i>	1,6
5	UAI	0, 20, 30, 40	0, 16, 28	Vacío/atmósfera modificada	<i>L. lumborum,</i> <i>Semitendinosus</i>	1,6
6	UAI	0, 20, 40	0, 16, 28	Vacío/atmósfera modificada	<i>L. lumborum,</i> <i>Semitendinosus</i>	1,6
7	UAI	20, 40	0, 16, 28	Vacío	<i>Semitendinosus</i>	1,4,5
8	UAI	0, 20, 40	0, 16, 28, 90	Vacío	<i>L. dorsi</i>	7

9	UAI	0, 60	16	Atmósfera modificada	<i>L. dorsi</i> , <i>Semitendinosus</i>	1,2,4,5
10	UAI y maduración húmeda	30, 40	16, 28	Vacío/atmósfera modificada	<i>L. lumorum</i>	5,10
11	UAI	0, 40	90	Vacío/atmósfera modificada	<i>L. lumorum</i>	5,10
12	UAI y marinado a 5 y 10% NaCl	60, 90	90	Vacío	<i>L. dorsi</i>	15

la carne ya que obtuvieron carne de tonalidad roja baja o carne pálida. Además, los tratamientos del grupo 2 tenían alta luminosidad. Los valores altos de a^* , b^* y C^* combinados con L^* baja en los tratamientos del grupo 3 y los valores bajos de L^* , indican una carne de color rojo oscuro opaca (Cuadro 3).

En cuanto a la fuerza de corte, una de las características más importantes en la carne fresca, algunos tratamientos en los grupos 3 y 8 se separaron mostrando (Cuadro 4) fuerza de corte > 5 kg, y valores de $C^* > 19$. Estos valores indican una carne dura con una intensidad de color alta. El Cuadro 4 muestra que el clúster 12 agrupa los tratamientos con valores altos de PG (18%) y CRA baja ($< 50\%$), indicando una carne con mala retención de agua.

Análisis Discriminante

Se realizó un análisis discriminante para investigar cómo y en qué medida las variables contribuyeron a la separación de grupos. El análisis discriminatorio complementó las conclusiones del análisis por grupos. El procedimiento discriminante desarrolló la combinación lineal de múltiples variables independientes que discriminarían entre las categorías de una variable dependiente. Este análisis también examinó si existían diferencias significativas entre los grupos, en términos de las variables predictoras, y evaluó la exactitud de la clasificación. Los resultados del análisis discriminante se muestran en el Cuadro 5 (a, b y c).

Cuadro 3. Prueba estandarizada de Tukey (TSD) para variables de color† de carne de bovino

L*	Clúster	a*	Clúster	b*	Clúster	C*	Clúster	Tono*	Clúster
44.99±3.04 ^a	2	17.86±0.89 ^a	3	9.85±0.48 ^a	3	20.41±1.17 ^a	3	37.15±3.66 ^a	6
44.35±3.04 ^{ab}	6	17.09±0.89 ^a	8	9.05±0.48 ^a	8	19.35±1.17 ^a	8	32.56±3.66 ^{ba}	2
43.62±3.04 ^{ab}	5	14.01±0.89 ^b	5	8.65±0.48 ^{ba}	5	16.80±1.17 ^b	5	31.67±3.66 ^{cb}	5
42.45±3.04 ^{abc}	4	12.97±0.89 ^{cb}	7	8.65±0.48 ^{ba}	6	14.94±1.17 ^{cb}	11	31.51±3.66 ^{cb}	12
41.47±3.04 ^{bc}	7	12.03±0.89 ^{cd}	2	7.69±0.48 ^{bc}	2	14.25±1.17 ^{cd}	2	28.89±3.66 ^{cd}	3
39.67±3.04 ^{dc}	9	11.65±0.89 ^{cde}	9	6.88±0.48 ^{dc}	12	13.88±1.17 ^{cd}	6	27.89±3.66 ^d	8
37.26±3.04 ^{de}	12	11.41±0.89 ^{cde}	6	5.85±0.48 ^{de}	4	13.17±1.17 ^{cde}	7	27.88±3.66 ^d	4
36.75±3.04 ^{de}	8	11.28±0.89 ^{cde}	10	4.97±0.48 ^{fe}	7	13.14±1.17 ^{cde}	12	21.03±3.66 ^e	7
36.23±3.04 ^e	1	11.15±0.89 ^{de}	12	4.43±0.48 ^{fg}	9	12.57±1.17 ^{dc}	4	20.80±3.66 ^e	9
35.68±3.04 ^e	10	11.04±0.89 ^{de}	4	3.67±0.48 ^{hg}	11	12.51±1.17 ^{fde}	9	19.04±3.66 ^e	11
34.60±3.04 ^e	3	10.92±0.89 ^{de}	1	2.98±0.48 ^{hi}	10	11.65±1.17 ^{fe}	10	14.37±3.66 ^f	10
28.16±3.04 ^f	11	10.23±0.89 ^e	11	2.36±0.48 ⁱ	1	10.96±1.17 ^f	1	12.10±3.66 ^f	1

† L*=luminosidad, a*=tendencia al rojo, b*=tendencia al amarillo, C*=croma, Hue*= ángulo de tono

abcdefghi Diferentes superíndices en la misma columna significan diferencias significativas entre grupos ($p < 0.05$).

Cuadro 4. Prueba estandarizada de Tukey (TSD) para la pérdida por goteo (PG), la capacidad de retención de agua (CRA) y esfuerzo de corte (EC) de la carne de bovino

PG%	Clúster	CRA %	Cluster	EC kg	Clúster
18.00±0.001 ^a	12	72.62 ±7.64 ^a	10	7.37±0.55 ^a	3
9.00±0.001 ^{cb}	2	69.09 ±7.64 ^{ba}	3	6.41±0.55 ^b	8
7.00±0.001 ^{cb}	1	67.00 ±7.64 ^{ba}	9	4.78±0.55 ^b	11
7.00±0.001 ^{cb}	11	66.91 ±7.64 ^{ba}	4	4.27±0.55 ^b	4
6.00±0.001 ^{cb}	4	64.61 ±7.64 ^{bc}	5	4.08±0.55 ^b	12
6.00±0.001 ^{cb}	9	64.62 ±7.64 ^{bc}	6	3.53±0.55 ^b	1
6.00±0.001 ^{cb}	5	61.93 ±7.64 ^{bcd}	1	3.53±0.55 ^b	5
5.00±0.001 ^{cb}	8	59.34 ±7.64 ^{ecd}	8	3.22±0.55 ^b	7
5.00±0.001 ^{cb}	6	57.97 ±7.64 ^{ecd}	2	3.13±0.55 ^b	10
4.00±0.001 ^{cb}	3	54.97 ±7.64 ^{efd}	7	2.95±0.55 ^b	2
4.00±0.001 ^c	10	52.89 ±7.64 ^f	11	2.92±0.55 ^b	6
3.00±0.001 ^c	7	47.84 ±7.64 ^f	12	2.65±0.55 ^b	9

^{abcdef} Diferentes superíndices en la misma columna significan diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$).

Ninguna de las variables fue eliminada en base a los resultados del procedimiento STEPDISC (SAS, 2004). Cada variable considerada tuvo un papel estadístico importante en la variabilidad total de los datos analizados. Todos ellos tienen un poder discriminante significativo general ($P < 0.0001$) e individual ($P < 0.05$) en la separación de los grupos (Cuadros 5a y 5b). Por lo tanto, todos ellos fueron incluidos en el análisis discriminatorio. Los resultados del análisis discriminante indicaron que los grupos 1, 4 y 5 tenían el mayor peso en la variabilidad de los datos (separación más amplia), con una proporción de 0,15, 0,12 y 0,17, respectivamente (Cuadro 5c).

Los resultados del análisis discriminante pueden tomarse como punto de referencia. El grupo más afectado por el tratamiento experimental, se puede determinar observando el peso y el poder discriminador de cada variable. Sin embargo, este análisis solo indica qué variable tuvo la mayor variabilidad, sin indicar si eran valores positivos o negativos en cada variable. Al realizar la validación cruzada de la función discriminante algunos tratamientos aparecen mal clasificados dentro de los doce grupos formados en el análisis de conglomerados. Esto permitió estimar el error de clasificación esperado (Hora y Wilcox, 1982). Por lo tanto, para los fines de este estudio, se realizaron reclasificaciones de los tratamientos hasta obtener un error cercano a cero (Cuadro 5a).

Cuadro 5. Análisis discriminante para la reclasificación de clústeres y la selección de variables

a) Procedimiento discriminante y estimación del error de clasificación[†]

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total
Error	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Error previo	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08

[†]Un error igual a 0 indica que no hay tratamientos mal clasificados dentro de los grupos.

b) Estadísticas resumidas de la selección escalonada de las variables de respuesta

Paso	Variable	R ²	F-Value	Pr > F [†]	Wilks' Lambda
1	H*	0.94	127.25	<.0001	0.05274885
2	b*	0.86	56.56	<.0001	0.00705689
3	L*	0.81	36.83	<.0001	0.00128270
4	WHC	0.68	17.21	<.0001	0.00041015
5	DL	0.59	11.83	<.0001	0.00016543
6	SF	0.54	9.33	<.0001	0.00007589
7	a*	0.49	7.56	<.0001	0.00003857
8	C*	0.52	8.63	<.0001	0.00001823

[†] $p < 0.05$ indica que la variable tiene significación en la variabilidad de los datos y no puede eliminarse del análisis.

c) Información a nivel de clase y proporción de cada clúster en la variabilidad de datos dentro del conjunto de datos

Grupo	Freq.	Peso	Proporción
1	16	16.00	0.15
2	6	6.00	0.06
3	6	6.00	0.06
4	18	18.00	0.17
5	13	13.00	0.12
6	7	7.00	0.07
7	7	7.00	0.07
8	9	9.00	0.09
9	6	6.00	0.06
10	4	4.00	0.04
11	4	4.00	0.04
12	8	8.00	0.07

En general, las técnicas multivariadas aplicadas en este estudio fueron útiles para agrupar tratamientos similares en función de las respuestas multivariantes. El análisis por conglomerados mostró la limitación en el ajuste de tratamientos con valores similares sin considerar diferencias significativas entre ellos. Por lo tanto, el estudio se complementó con un análisis discriminante y un análisis multivariante de las técnicas de varianza.

El análisis discriminante utilizó información en variables para obtener, lo más cerca posible, la separación en grupos correctos. De esta manera, el análisis discriminante identificó los tratamientos mal clasificados dentro de los grupos y los reclasificó. Mientras que el análisis de la varianza fue útil para detectar diferencias entre grupos y validar la agrupación propuesta. Las diferencias entre los grupos para todos (MANOVA) y cada una de las variables de respuesta (ANOVA) mostraron que cada tratamiento influyó en las propiedades de calidad de la carne.

Variables Fisicoquímicas

Color

El color de la carne se caracteriza por las coordenadas L^* , a^* , b^* , Chroma (C^*) y Hue* ya que son indicadores del color de la carne y están determinados por los valores L^* , a^* y b^* . El color de la carne de bovino puede verse afectado por la aplicación de ultrasonido (Pohlman *et al.*, 1997). El color de la carne depende de las condiciones de envasado. Cuando la carne se expone al aire, la mioglobina se une al oxígeno y el color se vuelve rojo brillante (oximioglobina).

Cuando la carne se envasa al vacío, el color tiende a volverse púrpura (desoximioglobina), y durante el almacenamiento permeable al oxígeno, el color tiende a un color marrón (metamioglobina) (Ripoll *et al.*, 2012). Además, cuando la carne se empaca en atmósfera modificada (ejemplo, 70-80:20-30%; O₂:CO₂) la mioglobina en contacto con niveles altos de O₂ se convierte en oximioglobina. La oximioglobina es el pigmento natural de la carne de bovino (Suman y Joseph, 2013). En este experimento, los tratamientos en los grupos 2 y 9 se envasaron en atmósfera modificada, mientras que los tratamientos en los grupos 3, 7, 8 y 12 se envasaron al vacío, y los tratamientos en los grupos 1, 4, 5, 6, 10 y 11 incluyeron tanto el envasado de carne al vacío como el envasado de carne en atmósfera modificada (Cuadro 2).

El empaquetado al vacío ha sido uno de los métodos más utilizados para conservar la carne durante largos períodos de tiempo. Conserva las propiedades fisicoquímicas de la carne y crea un ambiente libre de bacterias. La carne envasada al vacío da como resultado una decoloración de la carne que muestra una apariencia muy poco atractiva para los consumidores en algunos países (Vitale *et al.*, 2014). El empaquetado en atmósfera modificada da como resultado una mejor aceptación de la carne por parte de los consumidores de todo el mundo. Esto normalmente está relacionado con altos valores de C* y Hue en la carne. C* está relacionado con la sensación visual. Los valores de C* varían de 0 a 100 y permiten evaluar qué tan intenso es el color. C* también se llama croma o cromaticidad. HUE* es el atributo visual que permite conocer las variaciones en el color percibido y se le llama tono. Los valores de HUE* varían de 0 a 360°. En la carne roja este valor está regularmente cerca de los 45° (Ripoll *et al.*, 2012) y cuando el valor disminuye,

la carne se vuelve naranja. C^* depende directamente de la concentración de mioglobina, mientras que Hue^* puede indicar el estado químico del pigmento.

En este estudio, el envasado al vacío en el grupo 3 mostró carne de un color intenso (altos valores de a^* , b^* y C^*) (Cuadro 3). Mientras tanto, los envases en atmósfera modificada en el grupo 2 mostraron altos valores de Hue^* (Cuadro 3) que indican una tendencia a preservar el color rojo de la carne. Sin embargo, el color de la carne tuvo una gran variabilidad entre los tratamientos. C^* y Hue^* son los mejores indicadores para el color de la carne, ya que integran todas las variables de color. Los valores más altos de C^* y Hue^* se observaron en los grupos 3 y 8 (envasados al vacío), 6 (vacío y atmósfera modificada) y 2 (atmósfera modificada) (Cuadro 3).

La variabilidad en el color de la carne de res es multifactorial. Los factores considerados en el análisis por conglomerados fueron; tiempo de almacenamiento, tipo muscular, intensidad y tiempo de aplicación del UAI. El envasado afecta significativamente a las coordenadas L^* , a^* y b^* en la carne. Varios estudios han demostrado que la carne sonicada directamente sin envase no cambió los parámetros de color (Jayasooriya *et al.*, 2007; Peña-González *et al.*, 2017; Carrillo-López *et al.*, 2019).

A su vez, Chang *et al.* (2012) no reportaron un efecto de US sobre L^* y a^* , sino una disminución en los valores de b^* . Pohlman *et al.* (1997) reportaron un aumento en L^* y b^* , pero un valor reducido de a^* al aplicar UAI a intensidad de 22 W/cm^2 , en músculos pectorales de carne de res. García-Galicia *et al.* (2020) encontraron que la aplicación de ultrasonido a la carne provocó un cambio en la correlación de L^* , a^* y b^* con C^* . Esto podría indicar que la intensidad del ultrasonido afectó las proporciones de a^* o b^* en la carne,

posiblemente como resultado de cambios químicos en el tejido. Esta variabilidad entre los informes se puede atribuir a la naturaleza adecuada de cada experimento (tipo de músculo, tiempo de sonicación, etc.).

Se ha observado una interacción significativa entre el tipo de empaque y el tratamiento UAI. García-Galicia *et al.* (2020) se notificó un aumento de los valores de a^* y C^* en músculos *Longissimus lumborum* y *Semitendinosus* de bovino empacados al vacío por efecto del UAI (40 min 16 y 28 W/cm²). Durante el almacenamiento y la maduración, la carne se somete a procesos oxidativos y su color es variable. El valor de HUE* y C^* en la carne comúnmente disminuye causando el rechazo del consumidor. La carne envasada al vacío o en atmósfera modificada tiene un color diferente al de la carne fresca. El clúster 3 presentó los valores más altos de C^* (20.41, Cuadro 3) este clúster estuvo compuesto por tratamiento UAI de 20 y 40 min a intensidades de 16, 28 y 90 W/cm² y envasado al vacío. Para Hue*, el grupo 6 mostró los valores más altos (37.15, Cuadro 3), que se compuso de tratamiento con UAI de 20 y 40 min, intensidades de 16 y 28 W/cm², y envasado al vacío y atmósfera modificada. Un ángulo HUE* por encima de 45 la carne pierde su color rojo, en el presente estudio el valor HUE* más alto fue de 37.15, siendo este aceptable para el color de la carne (Ripoll *et al.*, 2012).

Por lo tanto, el análisis multivariante en este estudio sugiere que los tratamientos en el grupo 3 y 6 (Cuadros 2 y 3) podrían considerarse los mejores en términos de color de la carne, sin embargo, también se deben considerar otras variables de calidad.

Capacidad de retención de agua (CRA) y pérdida por goteo (PG)

La PG se refiere a la solución roja que emerge en la superficie de la carne durante el almacenamiento. La PG sólo mide la cantidad de exudado de agua de la matriz extracelular de la carne (Honikel y Hamm, 1994). La CRA se define como la capacidad de la carne fresca para retener su propia agua durante todo el proceso, desde el corte hasta la cocción. PG y CRA tienen una relación inversamente proporcional, es decir mientras una aumenta la otra disminuye (Lawrie y Ledward, 2006).

En este trabajo, el clúster con el valor de PG más bajo presentó los valores altos de CRA (grupo 10). El grupo 12 mostró el valor más alto de PG (12%), mientras que el más bajo estuvo en el grupo 7 (3%) y el grupo 10 (4%) (Cuadro 4). En este sentido, los valores más bajos para CRA encontrados en el grupo 12 (47.84%) correspondieron a *L. dors*i tratado con UAI por 60 y 90 min en combinación con adobo a 5 y 10% de NaCl. Los CRA más altos observados en el grupo 10 (72.62%) fueron los de *L. dors*i tratados con UAI por 30 y 40 min en combinación con la maduración húmeda. Curiosamente, el grupo 7 obtuvo el valor de PG más bajo, pero no correspondió al grupo con el CRA más alto (54.97%) (Cuadro 4). Esto se puede atribuir al hecho de que en el grupo 7 la carne tratada con UAI fue almacenada hasta 5 d (Cuadro 2) en comparación con los grupos 3 y 10, que eran carne, tratada con UAI y se almacenó durante 7 y 10 d. Además, la carne del grupo 10 fue sometida a maduración húmeda y almacenada en atmósfera modificada.

En general, en este estudio fue evidente que el clúster con el PG más bajo y el CRA más alto fue el grupo 10 (Cuadro 4). Este grupo incluyó tratamientos de los experimentos 3 y 4 (Cuadro 1). Los tratamientos se

agruparon según los criterios de envasado, almacenamiento y tiempo de UAI. En ambos grupos, la carne se envasó al vacío, se trató con UAI durante 20 y 40 min y se almacenó durante períodos de 1 a 7 d. Por lo tanto, el envasado al vacío ayuda a mantener una alta retención de agua en la carne.

La capacidad del músculo para retener agua tiene un efecto importante en la textura. Esto es importante al evaluar el deterioro de la carne, ya que cuando el tiempo de almacenamiento aumenta, las proteínas musculares experimentan procesos de desnaturalización y degradación, lo cual provoca cambios en la CRA. Los diferentes métodos de procesamiento inducen variaciones en el CRA de la carne. Dado que la mayor parte del agua muscular está dentro de las miofibrillas, la PG ocurre debido a la reducción de las miofibrillas después de la muerte (pH bajo) lo que hace que el agua sea expulsada al espacio extracelular. La disposición espacial y la carga electrostática de las miofibrillas cambia en la carne almacenada a temperatura de enfriamiento (Offer *et al.*, 1989).

Los informes reportados sobre los efectos de UAI en la CRA son variables. Algunos estudios muestran un aumento de CRA en carne fresca tratada con UAI (Dolatowski, *et al.*, 2007; Caraveo *et al.*, 2015; González-González *et al.*, 2020). Amiri *et al.* (2018) mostraron que la CRA de la carne se puede aumentar (45% - 53%) por el efecto del tratamiento con UAI durante 10 min ($100 \text{ W} / \text{cm}^2$). Cuando la intensidad o el tiempo de UAI aumentó a 30 min y/o $300 \text{ W}/\text{cm}^2$, la CRA aumentó significativamente hasta un 90% en comparación con los tratamientos de control con valores alrededor del 45%. Por el contrario, otros autores mostraron un aumento en la PG, y en consecuencia una disminución del valor de CRA de la carne tratada con UAI

(Chang *et al.*, 2015) o ningún cambio en CRA por la aplicación de UAI (40 kHz, 11 W/cm² durante 60 min) en *Longissimus dorsi* (Peña-González *et al.*, 2017). Estas variaciones se pueden atribuir a la desnaturalización de las proteínas miofibrilares, lo que conduce a una menor disponibilidad de iones cargados para la unión al hidrógeno durante el tratamiento con UAI (Zou *et al.*, 2018).

Las proteínas miofibrilares, principalmente actina y miosina, juegan un papel importante en el comportamiento de la CRA. Estas proteínas forman una red que causa un aumento en la CRA debido a la retención de humedad. El efecto de cavitación produce fuerzas físicas como ondas de choque y microjets, que causan un cambio en las propiedades funcionales de las proteínas (van Wijngaarden, 2016). El agua se encuentra principalmente entre las miofibrillas y la mayor parte del agua inmovilizada se encuentra dentro de las miofibrillas. La variación en la CRA depende de los cambios en la estructura original de la fibra muscular. Otros factores que influyen son; pH, proteólisis y oxidación de proteínas (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005). La CRA en cualquier músculo tiende a aumentar con el tiempo de almacenamiento, debido a la degradación de proteínas y cambios en las cargas eléctricas por un reordenamiento intramolecular (Lawrie y Ledward, 2006).

En este estudio la mayoría de los tratamientos incluyen el almacenamiento de carne. La CRA era mayor cuando la carne se almacenaba durante largos períodos. Los tratamientos en el grupo 10 incluyeron carne almacenada hasta 10 días (Cuadro 2). Además, los grupos con valores de

CRA más altos fueron grupos de UAI combinados con otras técnicas de procesamiento como el marinado o el almacenamiento.

Esfuerzo de corte (EC)

De acuerdo con el Cuadro 4, el grupo 3 tuvo los valores más altos de EC (7.37 kg) y el grupo 9 tuvo los valores de EC más bajos (2.65 kg). Los tratamientos del grupo 3 incluyeron la aplicación de UAI durante 20 y 40 min a 16, 28, 90 16 W/cm², mientras que los tratamientos del grupo 9 aplicaron UAI durante 60 min a 16 W/cm² y hasta 5 d de almacenamiento (Cuadro 2). Se encontró una relación entre la CRA y EC. Es evidente que la carne en el grupo 10 tuvo el valor de CRA más alto (72.62%) y un valor de EC relativamente bajo (3.13 kg; Cuadro 4).

El tipo de músculo afecta la terneza de la carne. Así, los resultados de los estudios sobre UAI aplicada a la carne son variables en cierta medida causados por el tipo muscular (García-Galicia *et al.*, 2020; González-González *et al.*, 2020). Algunos músculos tienen una alta cantidad de colágeno y un alto nivel de reticulación y tejido conectivo, lo que los hace más resistentes que los músculos con baja cantidad de tejido conectivo (Lawrie y Ledward, 2006). Por lo tanto, las variaciones en la dureza de la carne dependen en gran medida de la cantidad de tejido conectivo, los componentes miofibrilares y la integridad de la fibra muscular.

El UAI y la maduración tienen un efecto significativo sobre el esfuerzo de corte de la carne inmediatamente después del tratamiento, ya que la terneza aumenta con el almacenamiento de 7 días (Peña-González *et al.*, 2017; González-González *et al.*, 2020). Se ha notificado más carne bovina

tierna después de la aplicación de UAI (24 kHz, 12 W/cm² durante 4 min (Jayasooriya *et al.*, 2007; Chang *et al.*, 2015). El UAI daña la integridad de las células musculares debido al efecto mecánico. Estos daños cambian la estructura de la fibra muscular y provocan la liberación de proteasa endógena en las fibras musculares y, en última instancia, mejora indirectamente la ternura de la carne (Xiong *et al.*, 2012). Además de la alteración de la estructura de las fibras musculares, los cambios químicos también promueven la proteólisis y la desnaturalización de proteínas (Chang *et al.*, 2012; Kang *et al.*, 2017). Esto sugiere que la reducción de EC por UAI puede ser a través de diferentes maneras. La disminución del esfuerzo de corte en la carne tratada con UAI y la consiguiente mejora de la ternura se ha atribuido principalmente a la descomposición de las estructuras proteicas por proteólisis (Stadnik *et al.*, 2008; Xiong *et al.*, 2012). Esta degradación es causada por las proteasas endógenas de las fibras musculares, catepsinas y calpaínas (Chang *et al.*, 2012; Chang *et al.*, 2015; Kang *et al.*, 2017), que reducen el período de maduración de la carne. Además, se ha reportado una rápida tasa de degradación de desmina y troponina-T en muestras tratadas con UAI que resulta en el ablandamiento de la carne (Wang *et al.*, 2018). Los diferentes tipos de fibras musculares pueden ayudar a explicar las variaciones en el EC. Durante el almacenamiento, las fibras rojas parecen ser mucho menos susceptibles a la proteólisis que las fibras blancas (Ouali, 1991). Esto significa que la tasa de maduración es mayor en los músculos de fibras blancas que en los músculos rojos. Por esta razón, el músculo *L. dorsi* tuvo una maduración más acelerada que el músculo *semitendinoso* y se volvió más blando en un periodo más corto (González-González *et al.*, 2020).

Considerando las variables fisicoquímicas analizadas y, con la ayuda del análisis multivariante, los tratamientos en el grupo 6 (20, 40 min a 16-28 W/cm² almacenados durante 1-6 días (Cuadro 2) presentaron las mejores características fisicoquímicas mostrando un color aceptable, baja pérdida por goteo, alta capacidad de retención de agua y bajo esfuerzo de corte.

CONCLUSIONES

Se realizó un análisis multivariado para determinar el tratamiento más eficaz para mejorar la calidad fisicoquímica de la carne de vacuno. Los tratamientos incluyeron la aplicación de UAI y su combinación con el tipo de empaque, tiempo de almacenamiento y tipo de músculo. El análisis multivariado evidenció ser una herramienta adecuada para analizar la variabilidad multidimensional en las respuestas asociadas a la calidad de la carne. Esto podría representar un paso hacia la estandarización de la técnica, mediante el análisis de la variabilidad multidimensional en las respuestas asociadas con la calidad de la carne.

Se observó que el tratamiento de UAI solo, no tiene un efecto notable en las variables de color. Sin embargo, diferentes tipos de empaque combinados con UAI tienen un efecto significativo en el color de la carne de bovino. El valor de PG más bajo se encontró en la carne empacada al vacío sonicada a 16 y 28 W /cm² durante 20 y 40 min. El valor de CRA más alto fue el de la carne de vacuno tratada durante 30 y 40 min a 16 y 28 W/cm² y almacenada hasta por 10 días. La carne más blanda fue la de músculo *L. dorsi* sonicada a 16 W/cm² durante 60 min en atmósfera modificada y almacenada durante 5 d, presentó valores más altos de CRA, pero no obtuvo los mejores valores de color y PG.

De acuerdo con el análisis multivariante integrado, los músculos *L. dorsi* y *Semitendinosus* de carne de bovino tratados con UAI a 16-28 W / cm² durante 20-40 min y empacados en una atmósfera modificada arrojaron los mejores resultados fisicoquímicos. De esta manera, el análisis multivariante proporcionó información suficiente para seleccionar el tratamiento más efectivo teniendo en cuenta los parámetros de calidad que se mejoraron tanto individualmente como en grupos. Este estudio demostró que cada técnica multivariada individualmente puede ser útil para seleccionar variables, sin embargo, el análisis integrado dio una certeza más amplia en la interpretación de los datos. Finalmente, este estudio contribuirá a la estandarización y ampliación de la aplicación UAI a nivel industrial.

LITERATURA CITADA

- 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.
- Amiri, P., N. Sharifian y N. Soltanizadeh. 2018. Application of ultrasound treatment for improving the physicochemical, functional and rheological properties of myofibrillar proteins. *Int. J. Biol. Macromol.* 111:139–147.
- Arvanitoyannis, I. S., K. V. Kotsanopoulos y A. G. Savva. 2017. Use of ultrasounds in the food industry—Methods and effects on quality, safety, and organoleptic characteristics of foods: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57:109–128.

- Bilek, S. E. y F. Turantaş. 2013. Decontamination efficiency of high power ultrasound in the fruit and vegetable industry, a review. *Int. J. Food Microbiol.* 166:55-162.
- 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., M. Huerta-Jimenez, I. A. Garcia-Galicia y A. D. Alarcon-Rojo. 2019. Bacterial control and structural and physicochemical modification of bovine *Longissimus dorsi* by ultrasound. *Ultrason Sonochem.* 58:1-8.
- Chang, H. J., X. L. Xu, X. G. H. Zhou, C. B. Li y M. Huang. 2015. Effects of characteristics changes of collagen on meat physicochemical properties of beef semitendinosus muscle during ultrasonic processing. *Food Bioproc. Tech.* 5:285–297.
- 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.
- Dolatowski, Z. J., J. Stadnik J y D. Stasiak. 2007. Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 63:89–99.
- Drab, K. y M. Daszykowski. 2014. Clustering in analytical chemistry. *J. AOAC Int.* 97:29–38.

- Garcia-Galicia, I. A., M. Huerta-Jimenez, C. Morales-Piñon, S. Diaz-Almanza, L. M. Carrillo-Lopez, R. Reyes-Villagrana y A. D. Alarcon-Rojo. 2020. The impact of ultrasound and vacuum pack on quality properties of beef after modified atmosphere on display. *J. Food Process Eng.* 43:1–10.
- Gonzalez-Gonzalez, L., A. D. Alarcon-Rojo, L. M. Carrillo-Lopez, I. A. Garcia-Galicia, M. Huerta-Jimenez y L. Paniwnyk. 2020. Does ultrasound equally improve the quality of beef? An insight into *Longissimus lumborum*, *Infraspinatus* and *Cleidooccipitalis*. *Meat Sci.* 160:107963.
- Härdle, W. y L. Simar. 2012. Cluster Analysis. En *Applied Multivariate Statistical Analysis*. 3a ed. Editorial Springer. Berlin, Germany.
- Honikel, K. O. y R. Hamm. 1994. Measurement of water-holding capacity and juiciness. En *Advances in meat research*. Editorial Blackie Academic and Professional. Glasgow, UK.
- Hora, S. C. y J. B. Wilcox. 1982. Estimation of error rates in several-population discriminant analysis. *J. Mark. Res.* 19:57-61.
- Huff-Lonergan, E. y S. M. Lonergan. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.* 71:194-204.
- Inguglia, E. S., C. M. Burgess, J. P. Kerry y B. K. Tiwari. 2019. Ultrasound-assisted marination: Role of frequencies and treatment time on the quality of sodium-reduced poultry meat. *Foods.* 8:473.
- Jackson, J. E. 1991. *A user's Guide to Principal Components*. 1a ed. Editorial John Wiley & Sons. New York.

- 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., 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.
- Kumar, S., S. K. Singh y P. Mishra. 2013. Multivariate Analysis: An Overview. *J. Dent. Sci.* 2:19-26.
- Lawrie, R. y D. Ledward. 2006. *Lawrie's meat science 7^a ed.* Editorial Woodhead Publishing Limited. London, U.K.
- Los, F. G. B., D. Granato, R. C. Prestes y I. M. Demiate. 2014. Characterization of commercial cooked hams according to physicochemical, sensory, and textural parameters using chemometrics. *Food Sci. Technol (Campinas).* 34:577–584.
- Minitab. 2020. Statistical software for CP. LLC, PA, USA.
- Offer, G., P. Knight, R. Jeacocke, R. Almond, T. Cousins, J. Elsey, N. Parsons, A. Sharp, A. Starr y P. Purslow. 1989. The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. *Food Struct.* 8:51–170.
- Ouali, A. 1991. Sensory quality of meat as affected by muscle biochemistry and modern technologies. En *Animal Biotechnology and the Quality of Meat Production.* Editorial Elsevier B.V. Amsterdam, Netherland.

- Peña-Gonzalez, E.M., A. D. Alarcon-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 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. Dikerman y D. H. Kropf. 1997. Effects of high intensity ultrasound treatment, storage time and cooking method on shear, sensory, instrumental color and cooking properties of packaged and unpackaged beef Pectoralis muscle. *Meat Sci.* 46:89-100.
- Rao, C. R. 1973. *Multivariate Analysis*. En *Linear Statistical Inference and its Applications*. 2a ed. Editorial Academic Press. New York, USA.
- Rencher, A. C. 2002. *Multivariate Analysis of Variance*. En *Methods of Multivariate Analysis*. 2a ed. Editorial Academic Press. New York, USA.
- Ripoll G., B. Panea y P. Albertí. 2012. Visual appraisal of beef and its Relationship with the CIELab color space. (Itea) *Informacion Tecnica Economica Agraria*. 108:222–232.
- SAS. 2004. *SAS/STAT software for CP.User’s Guide*. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.
- Stadnik, J., Z. J. Dolatowski y H. M. Baranowska. 2008. Effect of ultrasound treatment on water holding properties and microstructure of beef (m. Semimembranosus) during ageing. *LWT - Food Sci. Technol.* 41:2151-2158.

- Suman, S. P y P. Joseph. 2013. Myoglobin Chemistry and Meat Color. *Annu Rev Food Sci Technol.* 4:79–99.
- The Unscrambler® X. 2019 v10.4. User Manual Version 1.0.
- van Wijngaarden, L. 2016. Mechanics of collapsing cavitation bubbles. *Ultrason. Sonochem.* 29:524–7.
- Vitale, M., M. Pérez-Juan, E. Lloret, J. Arnau y C. E. Realini. 2014. Effect of aging time in vacuum on tenderness, and color and lipid stability of beef from mature cows during display in high oxygen atmosphere package. *Meat Sci.* 96:270–277.
- 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.
- Xiong, G., L. Zhang, W. Zhan y J. Wu. 2012. Influence of ultrasound and proteolytic enzyme inhibitors on muscle degradation, tenderness, and cooking loss of hens during aging. *Czech J. Food Sci.* 30:195–205.
- Zou, Y., W. Zhang, D. Kang y G. Zhou. 2018. Improvement of tenderness and water holding capacity of spiced beef by the application of ultrasound during cooking. *J. Food Sci. Technol.* 53:828–836.

**ESTUDIO II.- ULTRASOUND AS A POTENTIAL TECHNOLOGY TO
IMPROVE THE QUALITY OF MEAT PRODUCED FROM A MEXICAN
AUTOCHTHONOUS BOVINE BREED**

BY:

Reyes Omaro Caraveo-Suarez¹, Iván Adrián García-Galicia¹, Eduardo Santellano-Estrada¹, Luis Manuel Carrillo-Lopez^{1,2*}, Mariana Huerta-Jimenez^{1,2}, Einar Vargas-Bello-Pérez^{1,3}. and Alma Delia Alarcon-Rojo^{1*}.

¹ Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua, Perif. Francisco R. Almada km 1, Chihuahua 31453, Chih., Mexico; p225247@uach.mx (R.O.C.-S.); igarciag@uach.mx (I.A.G.-G.); esantellano@uach.mx (E.S.-E.); mhuertaj@uach.mx (M.H.-J.); evargasb@sund.ku.dk (E.V.-B.-P.)

² Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito Constructor, Del. Benito Juárez, Ciudad de México C.P. 03940, Mexico.

³ Department of Veterinary and Animal Sciences, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Grønnegårdsvej 3, DK-1870 Frederiksberg C, Denmark.

Sustainability 2022, 14(7), 3886; <https://doi.org/10.3390/su14073886>

RESUMEN

EL ULTRASONIDO COMO HERRAMIENTA POTENCIAL PARA MEJORAR LA CALIDAD DE LA CARNE DE UNA RAZA BOVINA CRIOLLA DE MÉXICO

POR:

M.C. REYES OMARO CARAVEO SUÁREZ

Doctorado in Philosophia en Producción Animal

Universidad Autónoma de Chihuahua

Facultad de Zootecnia y Ecología

Secretaría de Investigación y Posgrado

Presidente: Ph. D Alma Delia Alarcón Rojo

En la actualidad, la industria alimentaria mundial tiene como objetivo ofrecer alimentos naturales, sanos, inocuos, con alto valor nutritivo y con una vida de anaquel mayor (FAO, 2021). En este aspecto, los métodos físicos y no invasivos han adquirido importancia (Petrescu *et al.*, 2020). Uno de estos métodos para el procesado de los alimentos es el ultrasonido de potencia o de alta intensidad. En el norte de México y sur de Estados Unidos de América, el ganado bovino Criollo Rarámuri es usado para el rodeo. Sin embargo, su carne es dura y de bajo valor comercial, por lo que es importante explorar técnicas de ablandamiento que contribuyan a incrementar su calidad. En este

estudio se evaluó el efecto del tratamiento ultrasónico de alta intensidad a una frecuencia (UAI) de 45 kHz y 20 min de exposición, sobre las propiedades fisicoquímicas, texturales y microestructurales de *Longissimus dorsi* (lomo) y *Triceps brachii* (brazuelo) de ganado Criollo Rarámuri. Se eligió esta raza porque no existen estudios reportados sobre la aplicación del UAI este tipo de carne, además de que es propia de la región de Chihuahua. Después de la sonicación, las muestras se almacenaron al vacío en refrigeración a 4 °C durante 0, 3, 6, 9 y 15 días. Se encontró un efecto del tratamiento con UAI sobre los parámetros de color (tendencia al amarillo, b* y ángulo de tono, HUE) de la carne, pérdida por goteo, pH, capacidad de retención de agua y colágeno total de la carne. Para ambos músculos, el esfuerzo de corte de la carne sonicada fue menor que el de las muestras no sonicadas. Bajo las condiciones en las que se llevó a cabo este estudio, se concluye que la aplicación de UAI constituye un método con potencial para ablandar la carne de ganado Criollo Rarámuri, lo que puede ayudar al posicionamiento de esta carne en el mercado nacional, apoyando a los pequeños productores de este ganado.

ABSTRACT

ULTRASOUND AS A POTENTIAL TECHNOLOGY TO IMPROVE THE QUALITY OF MEAT PRODUCED FROM MEXICAN AUTOCHTHONOUS BOVINE BREED

BY:

M.C REYES OMARO CARAVEO SUÁREZ

The objective of this study was to evaluate the effect of high-intensity ultrasound (HIU) on the physicochemical and textural properties of meat from Rararumi Criollo, a Mexican autochthonous bovine breed. After slaughter, *Longissimus dorsi* and *Triceps brachii* muscles were separated from carcasses, cut into 2.5 cm slices and HIU-treated except the control treatment, which was not sonicated. After treatment, samples were vacuum sealed and stored at 4 °C for 0, 3, 6, 9, 12 and 15 d. HIU increased ($p < 0.05$) luminosity and yellowness (b^*) of meat. Higher b^* ($p < 0.05$) was observed in *L. dorsi* than in *T. brachii* muscle. No effect ($p > 0.05$) of HIU was detected on drip loss, pH, water holding capacity and total collagen of meat. Shear force of HIU-treated meat was lower ($p < 0.05$) than that of control samples indicating a tenderizing effect. There were differences between muscles. *L. dorsi* was more tender ($p < 0.05$) and it had higher pH and WHC than *T. brachii*. Overall, HIU is a potential method for tenderizing Raramuri Criollo cattle meat without negative impact on other quality characteristics. HIU is an emerging technology that could add value to indigenous breeds and provide a new opportunity for the growing meat market.

INTRODUCTION

Today the global food industry aims to offer natural, healthy, safe food with high nutritional value with longer shelf life [1]. In addition, with regard to food consumption, consumers are more health-conscious and aware of the quality, safety, and environmental-friendliness. For consumers, the most relevant aspects of food healthiness are ingredients, nutrition facts, and additives, while packaging, food origin, and production type are associated to environmental impact [2]. In this regard, to extend the shelf life, physical and non-invasive methods have become important as they can improve processing efficiency. One of the methods used for food processing is high intensity ultrasound (HIU) [3]. In the last decade, HIU alone or in combination with other methods have been used to improve meat quality characteristics, such as water holding capacity, pH and colour. Previously, ultrasound has been used to modify functional properties of proteins, lengthen shelf life, and for inactivation of microorganisms in meat and meat products [4]. High intensity ($> 1 \text{ W/cm}^2$) and low frequency ultrasound (20-100 kHz) generates cavitation bubbles that cause physical and chemical modifications in muscle tissues [5]. Several studies have been carried out to determine the effect of HIU on beef quality, and they have reported favorable effects on meat tenderness and water holding capacity [6,7]. Until now, there are many ultrasound studies on beef quality, and the vast majority have focused on cuts of high commercial value (*L. dorsi* and *Semitendinosus*), however, information on the effect of HIU on muscles with less commercial value (i.e. tougher, less juiciness, and redder) are scarce. Similarly, most of the scientific reports are based on

European breeds muscles and until now, no study has been performed focused on the use of ultrasound on the properties of Mexican autochthonous bovine breeds.

Autochthonous or local cattle breeds have become increasingly important for sustainable meat production. Their natural evolution on particular regions/conditions have granted them with advantages over conventional breeds such as Angus, as they can consume low-quality diets with higher efficiency leading to produce protein with lower environmental impact on soil and vegetation [8,9,10]. However, meat produced from local breeds does not always satisfy the requirements from the meat industry, and hence, this meat is commercialized through niche markets [11,12]. The Raramuri Criollo cattle is an autochthonous breed from the Chihuahua Mountains of Mexico. Although these animals are mostly used for rodeo, they can also be used for meat production [13,14]. Producers who raise Raramuri Criollo cattle are interested in producing meat to meet the growing demand for grass-fed meat in the United States as this breed is reared in the border between Mexico and US [15]. In 2015, the organic and free-range meat market in the United States was valued at between \$ 1 billion and \$ 3 billion [16]. However, anecdotal experiences have created a wrong perception on textural properties of Criollo meat in the market, standing it out as tough and dry. To date, there is very little information on Raramuri Criollo meat tenderness, colour and water holding capacity. Furthermore, there are no reports on the effects of ultrasound on Raramuri Criollo meat physicochemical properties. Therefore, the objective of this study was to determine the quality parameters of *L. dorsi* and *T. brachii* from Raramuri Criollo cattle, and the effect of HIU on meat quality and

microstructure. The hypothesis was that applying ultrasonication would improve Raramuri Criollo meat quality.

MATERIALS AND METHODS

Animals

Meat from this study was obtained from Raramuri Criollo cattle fed on pasture until 17 months, finished for three months with a concentrated (18% of crude protein) [17] and grazed in meadows based on alfalfa and rye grass. Animals were slaughtered (~30 m old) in the municipal slaughterhouse of the city according to the Official Mexican Regulations [18]. Whole *Longissimus dorsi* (n = 3) and *Triceps brachi* (n = 3) were separated from the carcasses and used for this study (Figure 1). These muscles were selected because they are from different anatomical regions and have different commercial value. *L. dorsi* is a soft muscle and *T. brachii* is considered a tough muscle with low commercial value [19].

Meat samples

Subcutaneous fat and connective tissue were removed from each muscle. Perpendicular to muscle fiber direction, muscles were sliced into 144 samples with 2.5 cm-thickness (n=72 *L. dorsi* and n=72 *T. brachii*). Each sample was randomly assigned to one of 24 treatments: Two sonication times (time 0, which is the control, and 20 min), six storage times (0, 3, 6, 9, 12 and 15 days at 4 °C) and two muscles (*L. dorsi* and *T. brachii*) were applied, resulting in a completely random factorial experimental design with 3 factors (HIU time factor at two levels, storage time factor at six levels, and muscle type factor at two levels): 2 (HIU times) x 6 (storage periods) x 2 (muscle type) =

24. Therefore, the experiment had 24 treatments and 6 repetitions (n=144). Except the control which was no sonicated, each sample was immediately individually vacuum packed, sonicated, and stored at 4 °C for experimental analyses (Figure 1).

Ultrasound treatment

Sample sonication was carried out in a bath (Elmasonic® brand model Xtra ST, Singen, Germany) with a capacity of 30 L using distilled water as the diffusion medium. The water temperature was maintained in a range of 4.7-6 °C by using an immersion cooler (Julabo® model FT402, Seelbach, Germany). The ultrasound treatment was performed at a frequency of 45 kHz with an intensity of 11 W/cm² during 20 min. Treatments were 0 min (control sample, no sonicated) and 20 min of ultrasound. After treatment, the samples were stored at 4 °C for 0, 3, 6, 9, 12 and 15 d. The effect of ultrasound and storage on meat tenderness, shear force was measured on day 0 immediately after sonication and was compared to the meat shear force from each storage period.

Colour determination

Colour was determined using a colorimeter (PCE Instruments® model PCE-XXM 20, Meschede, Germany). Before measurements, the equipment was calibrated following manufacturer's instructions. Colour values were expressed as

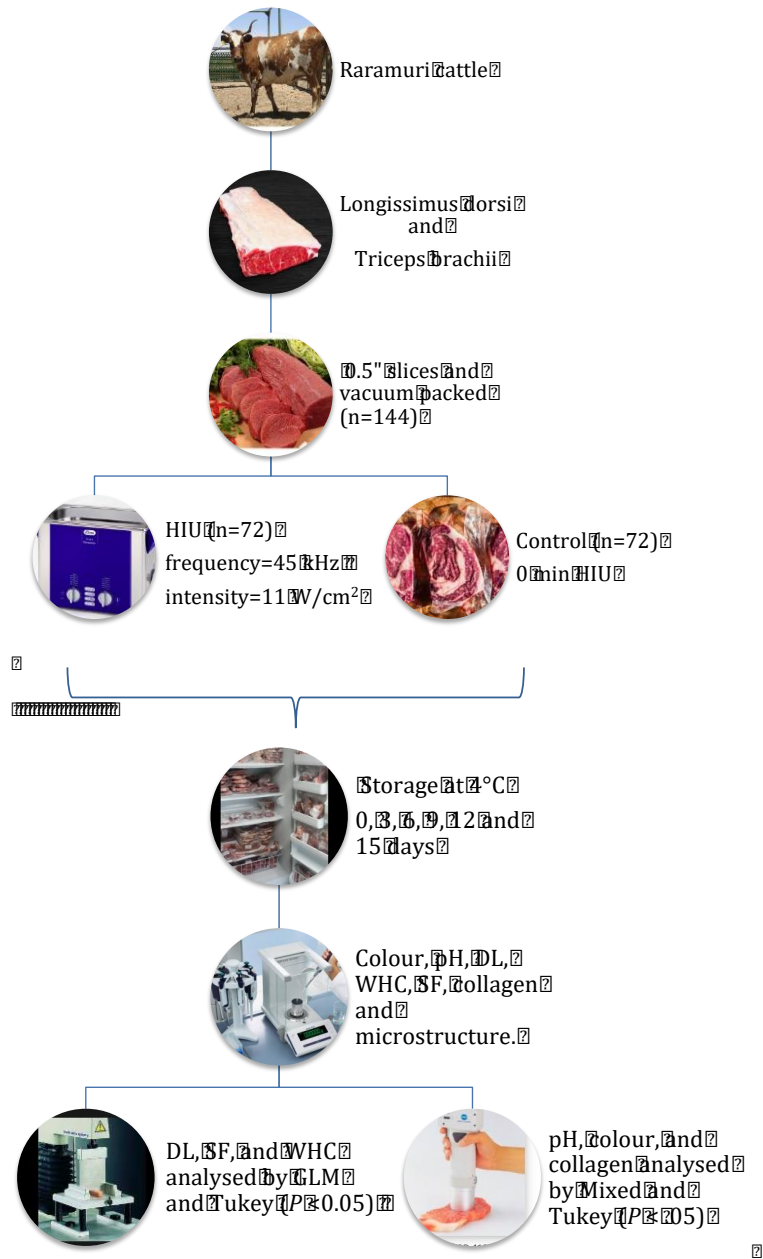


Figure 1. Diagram of the experiment. DL=drip loss, WHC=water holding capacity, SF= shear force.

L* (light / dark), a* (red / green), b* (yellow / blue), C* (chroma) $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ and H° (hue angle) = $\arctan (b^* / a^*)$. Measurements were made after oxygenation of samples on areas that were free of visible adipose and connective tissues. Three measurements were made per sample and the averages were recorded. The Delta E (ΔE) value was also calculated to obtain the difference between the colours of the control and sonicated samples ($\Delta E^* = ((L^*0-L^*t)^2 + (a^*0-a^*t)^2 + (b^*0-b^*t)^2)^{1/2}$). Where 0 subindexes correspond to non-sonicated meat samples and “t” subindexes to meat samples treated for 20 min ultrasound.

pH determination

The pH was recorded using a potentiometer (Hanna Instruments®; 99,163; Nusfalău, Romania) calibrated with buffer solutions of pH 4.0 and 7.0. Three readings were made at three different positions within the muscle sample and means were recorded.

Drip loss

The modified technique of Honikel & Hamm [20] was used. Briefly, 3 g of muscle were suspended in a plastic container and stored at 4 °C for 48 h, then, the weight of the sample was recorded. Weight loss was expressed as percentage.

Water holding capacity

The water holding capacity (WHC) was determined using the pressing method [21] modified by Tsai & Ockerman [22]. A sample of 0.5 g was placed between two filter papers (Number 1, 15 mm pore diam. Whatman®, Sigma, Neustadt an der Weinstraße, Germany), placed between two Plexiglas plates,

on which a constant weight pressure of 10 kg was exerted for 15 min. Weight loss was expressed as percentage.

Shear force

Shear force was determined using the American Association for Meat Science method [23]. Briefly, samples were cooked on grills until the meat reached a temperature of 70 ± 1 °C at the geometric center. Subsequently, the samples were stored at 4 °C for 24 h, then 6 cylinders with a diameter of 12.7 mm were obtained per sample using an electric-hole punch, taking care that these were parallel to the longitudinal orientation of the muscle fibers. The cylinders were cut using a Warner Bratzler blade in a "V" shape (60° triangular opening) at a speed of 2.0 mm/s. The maximum force (expressed as kg) to cut each cylinder transversely was recorded with a TA-TX-plus texture analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK).

Collagen

Quantification of collagen was carried out using the methodology of the International Organization for Standardization [24]. This was based on the hydrolysis of 10 g of sample in 30 ml of sulfuric acid solution (3 M) at 105 °C for 16 h. Then the hydrolyzate was filtered and diluted. The oxidation reaction was carried out with 4 ml of dilution and 2 ml of chloramine-T, mixed in a shaker and was allowed to stand for 20 min at room temperature. Subsequently, 2 mL of p-dimethylamino-benzaldehyde solution were added, mixed in a shaker, and placed in a water bath at 60 °C for 20 min. The samples were cooled for 3 min in a water bath and left to stabilize for 30 min at room temperature. Finally, absorbance was measured (DLAB® brand spectrophotometer model

SP-UV1100, Beijing, China) at 558 nm. The standard curve was prepared with hydroxyproline at 0.5, 1, 1.5 and 2 µg/ml. The hydroxyproline content was calculated using the equation: $W_n = 6.25C / mV$, where W_n is the hydroxyproline content expressed as percentage by mass; C is the hydroxyproline concentration in µg/ml; m is the mass in grams of the sample and V is the volume in ml of the hydrolyzate that was made up to 250 ml. A conversion factor of 7.25 was used to calculate the collagen content [25].

Scanning electron microscopy (SEM)

Three treatments were used for SEM analysis: control and HIU treatment at 0, 6 and 15 d of storage. Cubic (0.5 cm³) samples were cut under a stereoscope (Carl Zeiss®, Oberkochen, Germany) from the surface of the sonicated and non-sonicated samples and fixed using a 2.5% glutaraldehyde solution diluted in a phosphate buffer solution (pH 7.2). Subsequently, cubes were dehydrated in ethanol at 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 2×100% for 40 min. The samples were dried at critical point using CO₂ as transitional fluid dryer (Samdri-780A Tousimis, Rockville, USA) after which they were covered with gold-palladium (JEOL, fine coat sputter JFC-1100, Tokyo, Japan) to favor conduction for the scanning electron microscope (JEOL JSM 6390 SEM, Peabody, USA). This was performed using an accelerating voltage of 5 kV and obtaining micrographs with magnifications of 200× to characterize fibres and spaces between muscle fibres.

Statistical analysis

The data from drip loss, WHC and shear force was analyzed using the GLM general linear model procedure using a confidence level of 95%. A

completely randomized experimental design that included three factors, ultrasound time (2), muscle type (2) and days of storage (6), as well as their possible interactions, resulting in a factorial design (2 x 2 x 6) was used. Tukey test was used to determine significant differences within the means of ultrasound, storage time and muscle treatments. Variables measured over the time (pH, colour coordinates, and types of collagen) were analyzed with a mixed model (MIXED) considering treatment, muscle, storage and their interactions as fixed effects, and treatment x muscle nested in storage day as a random effect. All analyses were performed using the statistical package SAS 9.4 [26].

RESULTS AND DISCUSSION

The main effects of HIU, as well as the interaction between treatments and meat colour quality are shown in Table 1. Main significant effects were observed on colour (HUE and ΔE) and shear force (SF). Storage had effects on pH, colour (b^* , C^* , HUE and ΔE), WHC, SF, and collagen (soluble, insoluble and total). Significant effects were also observed by muscle type on colour (b^* , HUE and ΔE), pH, WHC, SF and collagen (soluble, insoluble and total) of meat as presented below.

Colour

An effect of ultrasound treatment and muscle type ($p < 0.05$) on some colour parameters was found (Table 2). Sonicated meat had higher yellowness (b^* value) than non-sonicated meat. Furthermore, b^* was higher in *L. dorsi* than *T. brachii*. Changes in beef colour could be attributed to factors inherent to the breed such as concentration and chemical state of pigments, structural attributes within the muscle cell, and amount of carotenoids deposited in

Table 1. Significant effects associated with the F statistic (P-values) by GLM or a mixed model analysis. The means represent six storage times (0, 3, 6, 9, 12 and 15 d) with two ultrasonication times (HIU, 0 and 20 min) from two muscles (*Longissimus dorsi* and *Triceps brachii*).

Variable ¹	Factor / Interaction						
	HIU	Storage (S)	Muscle (M)	HIU×M	HIU×S	M×S	HIU×M×S
pH	0.1991	<0.001	<0.0001	0.2505	0.0352	0.0015	0.4041
L*	0.0030	0.7416	0.1007	0.2187	0.4160	<0.0001	0.0667
a*	0.6512	0.0015	0.5546	0.2366	0.0828	<0.0001	0.0014
b*	0.0227	0.0475	<0.001	0.9913	0.0785	0.1346	0.3168
C*	0.7564	0.0031	0.3369	0.3834	0.1345	0.0002	0.0068
HUE	0.0139	<0.001	<0.001	0.1620	0.0073	<0.001	0.0021
ΔE	0.0801	<0.001	0.5612	0.3063	<0.0001	0.9844	0.7458
DL	0.996	0.214	0.6719	0.2178	0.1039	0.0155	0.4338
WHC	0.0539	0.0580	0.0030	0.2117	0.0056	0.0247	0.1970
SF	0.0096	<0.001	<0.001	0.8602	0.0005	0.0023	0.0011
Fsoluble	0.1675	<0.001	<0.001	0.2206	0.2666	<0.001	0.4050
Finsoluble	0.1690	<0.001	<0.001	0.2191	0.2653	<0.001	0.4073
Total collagen	0.1680	<0.001	<0.001	0.2182	0.2643	<0.001	0.4080

¹ L*= lightness; a*= redness; b*= yellowness; Chroma (C*) = total colour; Hue angle= the angle with the a* axis. Larger values of the hue angle indicate less red colour; ΔE= colour/energy difference; Fsoluble= Soluble fraction of collagen, Finsoluble= Insoluble fraction of collagen. US= ultrasound; DL= drip loss; WHC= water holding capacity of meat; SF= shear force.

intramuscular fat due to grazing [27]. This could indicate that ultrasound intensity affected the colour due to chemical changes in tissue pigments [28]. Reports of the effect of HIU on beef colour are highly variable.

The values found in this experiment were similar to those reported by Orellana et al. [29] who compared the meat colour parameters of Argentine Creole cattle with European cattle, determining that the meat of Creole cattle had darker colour than that from European-breed cattle. Similarly, Sañudo et al. [30] reported that rustic breeds such as Creole have darker meat than genetically improved breeds. In this regard, meat from Raramuri Criollo steers is dark; nevertheless, this meat could have market opportunities to be sold in the local market. In the present study, significant differences ($p < 0.05$) in the total color change (Delta E, ΔE) (Table 2) were observed due to ultrasound treatment, muscle type and days of storage. The ΔE of the sonicated meat was lower than that of the control treatment, and for *T. brachii* it was greater than *L. dorsi*.

According to the international regulation [31], the ΔE values were in the ranges from excellent to good, so it could be inferred that the difference observed. Meat usually has average L^* values of 35 and positive values of a^* and b^* [7]. Differences in meat colour could also be explained by structural attributes within the muscle cell [28].

Table 2. Colour parameters (CIE L*a*b*, Chroma, HUE and ΔE) of muscles treated with high-intensity ultrasound (HIU) and stored at different times (least square means ± standard error).

Factor	CIE L*a*b* ¹					
	L*	a*	b*	C*	HUE	ΔE
HIU (min)						
0	31.67 ± 0.26 ^b	13.90 ± 0.29 ^a	9.12 ± 0.14 ^b	16.66 ± 0.30 ^a	33.80 ± 5.30 ^b	0.93 ± 0.024 ^a
20	32.81 ± 0.26 ^a	13.72 ± 0.29 ^a	9.60 ± 0.14 ^a	16.79 ± 0.30 ^a	35.30 ± 4.67 ^a	0.87 ± 0.024 ^a
Muscle (M)						
<i>T. brachii</i>	32.62 ± 0.26 ^a	13.93 ± 0.29 ^a	8.82 ± 0.14 ^b	16.52 ± 0.30 ^a	32.73 ± 3.62 ^b	0.89 ± 0.024 ^a
<i>L. dorsi</i>	31.93 ± 0.26 ^a	13.69 ± 0.29 ^a	9.90 ± 0.14 ^a	16.93 ± 0.30 ^a	36.37 ± 5.58 ^a	0.91 ± 0.024 ^a
Storage (d)						
0	32.62 ± 0.45 ^a	14.71 ± 0.49 ^{ab}	9.20 ± 0.25 ^{ab}	17.38 ± 0.52 ^a	34.47 ± 3.64 ^c	0.00 ± 0.04 ^f
3	32.58 ± 0.45 ^a	12.66 ± 0.49 ^{bc}	9.54 ± 0.25 ^{ab}	15.98 ± 0.52 ^{ab}	37.83 ± 7.42 ^a	0.52 ± 0.04 ^e
6	31.74 ± 0.45 ^a	13.89 ± 0.49 ^{abc}	9.40 ± 0.25 ^{ab}	16.81 ± 0.52 ^{ab}	34.22 ± 4.00 ^{bc}	1.10 ± 0.04 ^c
9	32.29 ± 0.45 ^a	12.44 ± 0.49 ^c	8.77 ± 0.25 ^b	15.13 ± 0.52 ^b	35.55 ± 3.48 ^{ab}	0.76 ± 0.04 ^d
12	31.93 ± 0.45 ^a	14.06 ± 0.49 ^{abc}	9.20 ± 0.25 ^{ab}	16.90 ± 0.52 ^{ab}	33.46 ± 3.95 ^{bc}	1.36 ± 0.04 ^b
15	32.11 ± 0.45 ^a	15.10 ± 0.49 ^a	9.20 ± 0.25 ^a	18.16 ± 0.52 ^a	33.78 ± 5.54 ^{bc}	1.68 ± 0.04 ^a
HIU * storage						
0 min						
0 d	32.56 ± 0.63 ^a	15.19 ± 0.70 ^a	9.30 ± 0.35 ^a	17.87 ± 0.74 ^a	32.23 ± 0.14	0.00 ± 0.06 ^g
3 d	32.04 ± 0.63 ^a	12.38 ± 0.70 ^a	9.38 ± 0.35 ^a	15.65 ± 0.74 ^a	37.63 ± 0.07	0.61 ± 0.06 ^e
6 d	31.01 ± 0.63 ^a	14.43 ± 0.70 ^a	8.62 ± 0.35 ^b	16.84 ± 0.74 ^a	31.18 ± 0.14	0.86 ± 0.06 ^d
9 d	31.79 ± 0.63 ^a	12.92 ± 0.70 ^a	8.61 ± 0.35 ^b	15.31 ± 0.74 ^a	33.89 ± 0.11	0.77 ± 0.06 ^{de}
12 d	30.76 ± 0.63 ^a	12.84 ± 0.70 ^a	8.76 ± 0.35 ^a	15.58 ± 0.74 ^a	34.29 ± 0.05	1.39 ± 0.06 ^c
15 d	31.87 ± 0.63 ^a	15.63 ± 0.70 ^a	10.07 ± 0.35 ^a	18.73 ± 0.74 ^a	33.58 ± 0.04	1.59 ± 0.06 ^b
20 min						
0 d	32.67 ± 0.63 ^a	14.23 ± 0.70 ^a	9.11 ± 0.35 ^a	16.91 ± 0.74 ^a	32.71 ± 0.14	0.00 ± 0.06 ^g
3 d	33.12 ± 0.63 ^a	12.94 ± 0.70 ^a	9.69 ± 0.35 ^a	16.31 ± 0.74 ^a	38.04 ± 0.13	0.42 ± 0.06 ^f
6 d	32.47 ± 0.63 ^a	13.34 ± 0.70 ^a	10.17 ± 0.35 ^a	16.79 ± 0.74 ^a	37.27 ± 0.17	1.34 ± 0.06 ^c

9 d	32.80 ± 0.63 ^a	11.95 ± 0.70 ^b	8.93 ± 0.35 ^a	14.95 ± 0.74 ^a	37.21 ± 0.06	0.74 ± 0.06 ^e
12 d	33.46 ± 0.63 ^a	15.28 ± 0.70 ^a	9.88 ± 0.35 ^a	18.22 ± 0.74 ^a	32.64 ± 0.08	1.33 ± 0.06 ^c
15 d	32.34 ± 0.63 ^a	14.57 ± 0.70 ^a	9.81 ± 0.35 ^a	17.59 ± 0.74 ^a	33.87 ± 0.05	1.77 ± 0.06 ^a
M * storage						
<i>L. dorsii</i>						
0 d	31.21 ± 0.63 ^b	16.13 ± 0.70 ^a	9.58 ± 0.35 ^a	18.80 ± 0.74 ^a	31.16 ± 3.84	0.00 ± 0.06 ^a
3 d	32.72 ± 0.63 ^{ab}	10.2 ± 0.70 ^d	9.99 ± 0.35 ^a	14.30 ± 0.74 ^c	44.45 ± 3.50	0.51 ± 0.06 ^a
6 d	30.74 ± 0.63 ^b	14.4 ± 0.70 ^b	9.71 ± 0.35 ^a	17.50 ± 0.74 ^{ab}	34.07 ± 5.39	1.10 ± 0.06 ^a
9 d	30.7 ± 0.63 ^b	13.84 ± 0.70 ^{bc}	9.07 ± 0.35 ^a	16.33 ± 0.74 ^{ab}	33.59 ± 3.10	0.78 ± 0.06 ^a
12 d	33.34 ± 0.63 ^a	14.17 ± 0.70 ^b	10.49 ± 0.35 ^a	17.65 ± 0.74 ^a	36.60 ± 3.20	1.36 ± 0.06 ^a
15 d	32.84 ± 0.63 ^a	13.33 ± 0.70 ^c	10.54 ± 0.35 ^a	17.02 ± 0.74 ^a	38.38 ± 3.23	1.71 ± 0.06 ^a
<i>T. brachii</i>						
0 d	34.02 ± 0.63 ^a	13.2 ± 0.70 ^c	8.83 ± 0.35 ^a	15.97 ± 0.74 ^b	33.78 ± 3.20	0.00 ± 0.06 ^a
3 d	32.44 ± 0.63 ^{ab}	15.13 ± 0.70 ^{ab}	9.09 ± 0.35 ^a	17.65 ± 0.74 ^a	31.22 ± 1.97	0.51 ± 0.06 ^a
6 d	32.75 ± 0.63 ^a	13.31 ± 0.70 ^c	9.09 ± 0.35 ^a	16.13 ± 0.74 ^b	34.37 ± 2.48	1.10 ± 0.06 ^a
9 d	33.83 ± 0.63 ^a	11.04 ± 0.70 ^d	8.47 ± 0.35 ^a	13.92 ± 0.74 ^c	37.51 ± 2.78	0.73 ± 0.06 ^a
12 d	30.87 ± 0.63 ^b	13.95 ± 0.70 ^b	8.15 ± 0.35 ^a	16.15 ± 0.74 ^b	30.33 ± 0.77	1.36 ± 0.06 ^a
15 d	31.37 ± 0.63 ^b	16.87 ± 0.70 ^a	9.34 ± 0.35 ^a	19.30 ± 0.74 ^a	29.17 ± 2.50	1.65 ± 0.06 ^a

1 L* = luminosity, a* = redness, b* = yellowness, C* = chroma, HUE= hue angle, ΔE = delta E, the colour difference. a–g Column means within each variable or interaction with different superscripts differ significantly (p < 0.05). M * storage= Muscle x storage combination.

pH

Table 3 shows the pH values, water holding capacity, drip loss and shear force from meat. No significant differences were detected in meat pH ($p > 0.05$), but there were significant effects ($p < 0.05$) on muscle type, storage time and the interactions of ultrasound \times storage and muscle \times storage. *T. brachii* had higher pH values than *L. dorsi*. The variations in pH can be attributed to the release of ionic groups from protein structures into the extracellular environment. The pH values from this study are within the normal range (5.00-5.50) for fresh beef [32]. Some authors reported values similar to the present study (5.42) in *L. dorsi* muscle of Argentine Creole and Bradford cattle [29] as well as in Creole steers and Creole crosses with Angus cattle [33].

Drip loss

No effects of ultrasound treatment, type of muscle, storage time, and its interactions on drip loss (DL) ($p > 0.05$) were observed (Table 3). The use of ultrasound did not show an effect ($p > 0.05$) on WHC, but effects of muscle type and storage and their interactions were found ($p < 0.05$). Drip loss is an important quality criterion for meat processing and for consumers and is defined as the red aqueous protein solution that emerges on the meat surface and measures the amount of exudate from the extracellular matrix of meat [32]. Although no effect of HIU was found in the present study, some authors such as Chang et al. [34] mentioned that ultrasound could lead to higher exudate in beef treated with 40 kHz and 1500 W from 10 to 60 min.

Table 3. Physicochemical variables of muscles treated with high-intensity ultrasound (HIU) and stored at different times (least square means \pm standard error).

Variable ¹	Physicochemical Variables			
	pH	DL	WHC	SF
HIU (min)				
0	5.33 \pm 0.004 ^a	1.79 \pm 0.13 ^a	69.13 \pm 0.57 ^a	3.75 \pm 0.08 ^a
20	5.35 \pm 0.004 ^a	1.78 \pm 0.13 ^a	67.54 \pm 0.57 ^a	3.46 \pm 0.08 ^b
Muscle (M)				
<i>Triceps brachii</i>	5.41 \pm 0.004 ^a	1.83 \pm 0.13 ^a	67.08 \pm 0.57 ^b	4.15 \pm 0.08 ^a
<i>L. dorsi</i>	5.27 \pm 0.004 ^b	1.75 \pm 0.13 ^a	69.59 \pm 0.57 ^a	3.07 \pm 0.08 ^b
Storage (d)				
0	5.34 \pm 0.004 ^b	1.71 \pm 0.23 ^a	70.83 \pm 0.98 ^a	2.49 \pm 0.13 ^b
3	5.35 \pm 0.004 ^{ab}	1.92 \pm 0.23 ^a	67.33 \pm 0.98 ^{ab}	3.66 \pm 0.13 ^a
6	5.28 \pm 0.004 ^b	1.68 \pm 0.23 ^a	67.87 \pm 0.98 ^{ab}	3.57 \pm 0.13 ^a
9	5.32 \pm 0.004 ^b	2.28 \pm 0.23 ^a	66.64 \pm 0.98 ^b	3.95 \pm 0.13 ^a
12	5.33 \pm 0.004 ^b	1.47 \pm 0.23 ^a	69.22 \pm 0.98 ^{ab}	4.06 \pm 0.13 ^a
15	5.43 \pm 0.004 ^a	1.68 \pm 0.23 ^a	68.12 \pm 0.98 ^{ab}	3.92 \pm 0.13 ^a
HIU * storage				
0 min				
0 d	5.26 \pm 0.03 ^c	1.68 \pm 0.32 ^a	72.50 \pm 1.39 ^a	2.31 \pm 0.18 ^c
3 d	5.35 \pm 0.03 ^b	1.50 \pm 0.32 ^a	67.15 \pm 1.39 ^b	4.11 \pm 0.18 ^a
6 d	5.28 \pm 0.03 ^c	1.61 \pm 0.32 ^a	66.31 \pm 1.39 ^c	3.49 \pm 0.18 ^b
9 d	5.32 \pm 0.03 ^{bc}	2.85 \pm 0.32 ^a	69.43 \pm 1.39 ^{ab}	4.38 \pm 0.18 ^a
12 d	5.34 \pm 0.03 ^{bc}	1.45 \pm 0.32 ^a	68.38 \pm 1.39 ^b	4.45 \pm 0.18 ^a
15 d	5.43 \pm 0.03 ^a	1.64 \pm 0.32 ^a	71.00 \pm 1.39 ^a	3.77 \pm 0.18 ^b
20 min				
0 d	5.41 \pm 0.03 ^a	1.74 \pm 0.32 ^a	69.16 \pm 1.39 ^{ab}	2.66 \pm 0.18 ^c
3 d	5.35 \pm 0.03 ^b	2.34 \pm 0.32 ^a	67.51 \pm 1.39 ^b	3.22 \pm 0.18 ^b
6 d	5.28 \pm 0.03 ^c	1.75 \pm 0.32 ^a	69.44 \pm 1.39 ^{ab}	3.64 \pm 0.18 ^b
9 d	5.32 \pm 0.03 ^{bc}	1.70 \pm 0.32 ^a	63.84 \pm 1.39 ^d	3.52 \pm 0.18 ^b
12 d	5.32 \pm 0.03 ^{bc}	1.48 \pm 0.32 ^a	70.05 \pm 1.39 ^a	3.67 \pm 0.18 ^b
15 d	5.43 \pm 0.03 ^a	1.72 \pm 0.32 ^a	65.26 \pm 1.39	4.07 \pm 0.18 ^a
M * storage				
<i>L. dorsi</i>				
0 d	5.24 \pm 0.03 ^b	1.52 \pm 0.32 ^b	74.91 \pm 1.39 ^a	2.31 \pm 0.18 ^d
3 d	5.27 \pm 0.03 ^b	2.47 \pm 0.32 ^a	68.30 \pm 1.39 ^c	2.92 \pm 0.18 ^{cd}
6 d	5.14 \pm 0.03 ^c	1.52 \pm 0.32 ^b	67.48 \pm 1.39 ^c	3.06 \pm 0.18 ^c
9 d	5.27 \pm 0.03 ^b	1.62 \pm 0.32 ^b	68.70 \pm 1.39 ^c	3.63 \pm 0.18 ^c
12 d	5.30 \pm 0.03 ^b	1.54 \pm 0.32 ^b	70.29 \pm 1.39 ^b	3.13 \pm 0.18 ^c
15 d	5.41 \pm 0.03 ^a	1.82 \pm 0.32 ^a	67.86 \pm 1.39 ^c	3.34 \pm 0.18 ^c
<i>T. brachii</i>				
0 d	5.43 \pm 0.03 ^a	1.90 \pm 0.32 ^a	66.75 \pm 1.39 ^c	2.66 \pm 0.18 ^d
3 d	5.43 \pm 0.03 ^a	1.37 \pm 0.32 ^b	66.36 \pm 1.39 ^c	4.40 \pm 0.18 ^b
6 d	5.41 \pm 0.03 ^a	1.84 \pm 0.32 ^a	68.27 \pm 1.39 ^c	4.07 \pm 0.18 ^b
9 d	5.37 \pm 0.03 ^a	2.94 \pm 0.32 ^a	64.58 \pm 1.39 ^d	4.28 \pm 0.18 ^b
12 d	5.36 \pm 0.03 ^b	1.40 \pm 0.32 ^b	68.15 \pm 1.39 ^c	4.99 \pm 0.18 ^a
15 d	5.45 \pm 0.03 ^a	1.53 \pm 0.32 ^b	68.39 \pm 1.39 ^c	4.50 \pm 0.18 ^b

¹ DL = drip loss (%); WHC = water-holding capacity (%); SF = shear force (N). a,b,c,d Column means within each variable or interaction with different superscripts differ significantly (p < 0.05). HIU * storage = high intensity ultrasound x storage combination.

Water holding capacity

The *L. dorsii* had higher WHC values than *T. brachii* and the highest WHC value was observed on day 0 with a tendency to decrease with storage time (Table 3). These variations in WHC can be attributed to the denaturation of myofibrillar proteins caused by ultrasound. Through cavitation, HIU produces physical forces such as shock waves and micro jets that cause a change in the functional properties of proteins [35]. Ultrasound can change the spatial conformation and solubility of the myofibrillar protein that bound and intercept water, and thus affect WHC. This may explain values at day 0 (immediately after sonication) when proteins were still intact, since that day the highest WHC value was observed. The values from WHC (Table 3) are higher than those reported by Orellana et al. [29] for Argentine Creole breeds and crosses with zebu. It should be noted that in the study by Orellana et al. [29] beef was not sonicated.

Shear force

For SF, the effect of ultrasound treatment, muscle type, storage time and their interaction were observed ($p < 0.05$). In general, the sonicated samples had lower SF than the control. Among the different muscles, *T. brachii* had higher SF value with regard to *L. dorsii* during storage, and the lowest value was observed on day 0 with a tendency to increase on day 3 and remain constant during the storage period (Table 3).

The application of HIU has been studied by Peña-Gonzalez et al. [7] as a method to improve tenderness of fresh meat by reducing meat SF. Those authors reported no detrimental effect of HIU on other quality parameters such as colour, WHC and DL. This reduction in SF has been attributed to a number of physical

and chemical factors triggered by ultrasound treatment. Such effects result in the alteration and breakdown of muscle fibers structure that promote proteolysis and denaturation of proteins due to the activation of endogenous enzymes such as cathepsins and/or calpains [34] which accelerate ageing processes and fragmentation of collagen macromolecules [36].

In the present study, SF decreased immediately after sonication, with lower values than control treatment (Table 3). These results are consistent with those observed previously [7, 37] when applying HIU to beef. The favorable effects reported in meat tenderness after short time HIU application were also evidenced in the present study. This is a very promising result since the tenderness of Raramuri Criollo meat could be improved with the use of ultrasound. The HIU tenderizing effect on meat could be related to the activation of calpains, the proteolytic activity involved in protein degradation that induce meat tenderization [38]. In this study, an important factor that influenced beef toughness was the type of muscle, leading to differences in SF between *L. dorsi* and *T. brachii* (Table 3). Different types of muscle fibers can help explain variations in SF. During storage, sarcoplasmic proteins and slow-twitch fibers (type I or red) are less susceptible to proteolysis than fast-twitch glycolytic muscle proteins (type IIb or white) [39]. This means that white fiber muscles are softer than red fiber muscles. The observations of the present study agree with this since *L. dorsi*, a predominant white muscle, was more tender than *T. brachii* which is predominantly a red muscle and tougher than *L. dorsi*. The SF values of this study are lower from those reported by Orellana et al. [29] for both the control and sonicated treatments. The tenderness values found in this study allowed to

classify beef of both breeds as 'tender' [40]. The difference between the values can be attributed to the type/breed of cattle, feeding system, and ultrasound treatment.

Collagen

No effect of ultrasound treatment was observed on any type of collagen ($p > 0.05$). The *T. brachii* muscle had a higher amount of soluble collagen, insoluble collagen and total collagen than *L. dorsi*. During the storage period, the three types of collagen showed a marked tendency to be reduce ($p < 0.05$) during storage from 0 to 12 d (Table 4). There are several studies reporting the effect of ultrasound on beef collagen. Gonzalez-Gonzalez et al. [6] applied HIU (40 kHz, 11 W/cm² and 80 min) and observed changes in collagen and storage time of 7 and 14 d. They reported that sonicated samples had a decrease in the concentration of total collagen compared to control samples. Similar results were observed by other authors [41] who found effects at 28 kHz and 40 kHz at 20 min, on the ultrastructure and infrastructure of collagen fibers in beef.

Chang et al. [34] found no effects of HIU (40 kHz, 1500 W) on the content of insoluble collagen in bovine *Semitendinosus* muscle, but they observed a small increase in the concentration of soluble collagen with 50 min of sonication. This effect was not observed in the present study probably because the meat was sonicated only for 20 min being this time too short to induce effects on the collagen molecule. Differences were observed in collagen concentrations between *T. brachii* and *L. dorsi*. The decrease in collagen solubility occurs simultaneously with the increase in shear force, which also increases with the animal's age.

During storage, muscles undergo a series of physical and biochemical

changes related to the weakening of myofibrillar proteins. It has been reported that proteoglycans, that bind collagen fibrils, remain unchanged up to 10 d of storage, but a progression of structural alterations is clearly visible after 14 d [42]. Which agrees with the results of the present study where a decrease in collagen was observed during storage, and this decrease was more visible after 6 d of storage (Table 4).

Microstructure

Figures 2 and 3 show the microstructural changes in *L. dorsii* and *T. brachii* muscles after ultrasound treatment and stored for 0, 6 and 15 d. In these Figures, some structural alterations such as disorganization in the myofibrillar arrangement in both muscles can be observed immediately after ultrasound treatment and during storage. In general, muscle fibers tended to separate from each other in both muscles under ultrasound treatment for 20 min. Samples that were sonicated for 20 min showed an increase in the interfibrillar area of both muscles with the same storage time. This indicated an effect on the structure of the connective tissue since in both cases; the interfibrillar space of the treated samples of both muscles had a tendency to increase with the storage time. It was also found that the interfibrillar area decreased only on day 6 in *L. dorsii* muscle. The decrease found in the interfibrillar area of both, *L. dorsii* and *T. brachii* on day 6 of storage can be attributed to the low amount of connective tissue in this muscle. These results agree with those reported by Carrillo-Lopez et al. [43] who observed an increase in the interfibrillar space in *L. dorsii* immediately after ultrasound at 37 kHz with intensities of 16 and 28 W/cm².

Table 4. Collagen and total collagen fractions of muscles treated with high-intensity ultrasound and stored at different times (least square means \pm standard error).

Collagen $\mu\text{g} / \text{mL}$			
Variable	Soluble Fraction	Insoluble Fraction	Total Collagen
HIU (min)			
0	3.60 \pm 0.016 ^a	3.47 \pm 0.015 ^a	7.06 \pm 0.031 ^a
20	3.63 \pm 0.016 ^a	3.50 \pm 0.015 ^a	7.13 \pm 0.031 ^a
Muscle type			
<i>Triceps brachii</i>	4.23 \pm 0.016 ^a	4.08 \pm 0.015 ^a	8.31 \pm 0.031 ^a
<i>L. dorsi</i>	2.99 \pm 0.016 ^b	2.88 \pm 0.015 ^b	5.88 \pm 0.031 ^b
Storage (d)			
0	5.19 \pm 0.028 ^a	5.00 \pm 0.027 ^a	10.2 \pm 0.054 ^a
3	3.05 \pm 0.028 ^e	2.94 \pm 0.027 ^e	6.00 \pm 0.054 ^e
6	3.24 \pm 0.028 ^d	3.13 \pm 0.027 ^d	6.37 \pm 0.054 ^d
9	3.49 \pm 0.028 ^c	3.37 \pm 0.027 ^c	6.86 \pm 0.054 ^c
12	1.83 \pm 0.028 ^f	1.77 \pm 0.027 ^f	3.60 \pm 0.054 ^f
15	4.86 \pm 0.028 ^b	4.69 \pm 0.027 ^b	9.55 \pm 0.054 ^b
HIU * storage			
0 min			
0 d	5.14 \pm 0.039 ^a	4.96 \pm 0.038 ^a	10.1 \pm 0.077 ^a
3 d	3.05 \pm 0.039 ^a	2.94 \pm 0.038 ^a	5.99 \pm 0.077 ^a
6 d	3.26 \pm 0.039 ^a	3.14 \pm 0.038 ^a	6.41 \pm 0.077 ^a
9 d	3.50 \pm 0.039 ^a	3.37 \pm 0.038 ^a	6.87 \pm 0.077 ^a
12 d	1.77 \pm 0.039 ^a	1.71 \pm 0.038 ^a	3.49 \pm 0.077 ^a
15 d	4.86 \pm 0.039 ^a	4.68 \pm 0.038 ^a	9.54 \pm 0.077 ^a
20 min			
0 d	5.25 \pm 0.039 ^a	5.06 \pm 0.038 ^a	10.3 \pm 0.077 ^a
3 d	3.06 \pm 0.039 ^a	2.95 \pm 0.038 ^a	6.00 \pm 0.077 ^a
6 d	3.22 \pm 0.039 ^a	3.11 \pm 0.038 ^a	6.33 \pm 0.077 ^a
9 d	3.48 \pm 0.039 ^a	3.36 \pm 0.038 ^a	6.84 \pm 0.077 ^a
12 d	1.89 \pm 0.039 ^a	1.82 \pm 0.038 ^a	3.71 \pm 0.077 ^a
15 d	4.87 \pm 0.039 ^a	4.69 \pm 0.038 ^a	9.56 \pm 0.077 ^a
M * storage			
<i>L. dorsi</i>			
0 min			
0 d	5.75 \pm 0.039 ^a	5.55 \pm 0.038 ^a	11.30 \pm 0.077 ^a
3 d	2.54 \pm 0.039 ^d	2.45 \pm 0.038 ^c	4.99 \pm 0.077 ^d
6 d	1.81 \pm 0.039 ^d	1.74 \pm 0.038 ^d	3.55 \pm 0.077 ^d
9 d	2.69 \pm 0.039 ^d	2.59 \pm 0.038 ^c	5.28 \pm 0.077 ^d
12 d	1.67 \pm 0.039 ^d	1.61 \pm 0.038 ^d	3.27 \pm 0.077 ^d
15 d	3.50 \pm 0.039 ^c	3.38 \pm 0.038 ^b	6.88 \pm 0.077 ^c

T. brachii

0 min

0 d	4.63 ± 0.039 ^b	4.46 ± 0.038 ^b	9.09 ± 0.077 ^b
3 d	3.57 ± 0.039 ^c	3.44 ± 0.038 ^b	7.01 ± 0.077 ^c
6 d	4.68 ± 0.039 ^b	4.51 ± 0.038 ^b	9.19 ± 0.077 ^b
9 d	2.30 ± 0.039 ^d	4.14 ± 0.038 ^b	8.44 ± 0.077 ^b
12 d	2.00 ± 0.039 ^d	1.93 ± 0.038 ^d	3.93 ± 0.077 ^d
15 d	6.22 ± 0.039 ^a	6.00 ± 0.038 ^a	12.22 ± 0.077 ^a

^{a-f} Column means within each variable or interaction with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$). HIU * storage= high intensity ultrasound x storage combination. M * storage= Muscle x storage combination.

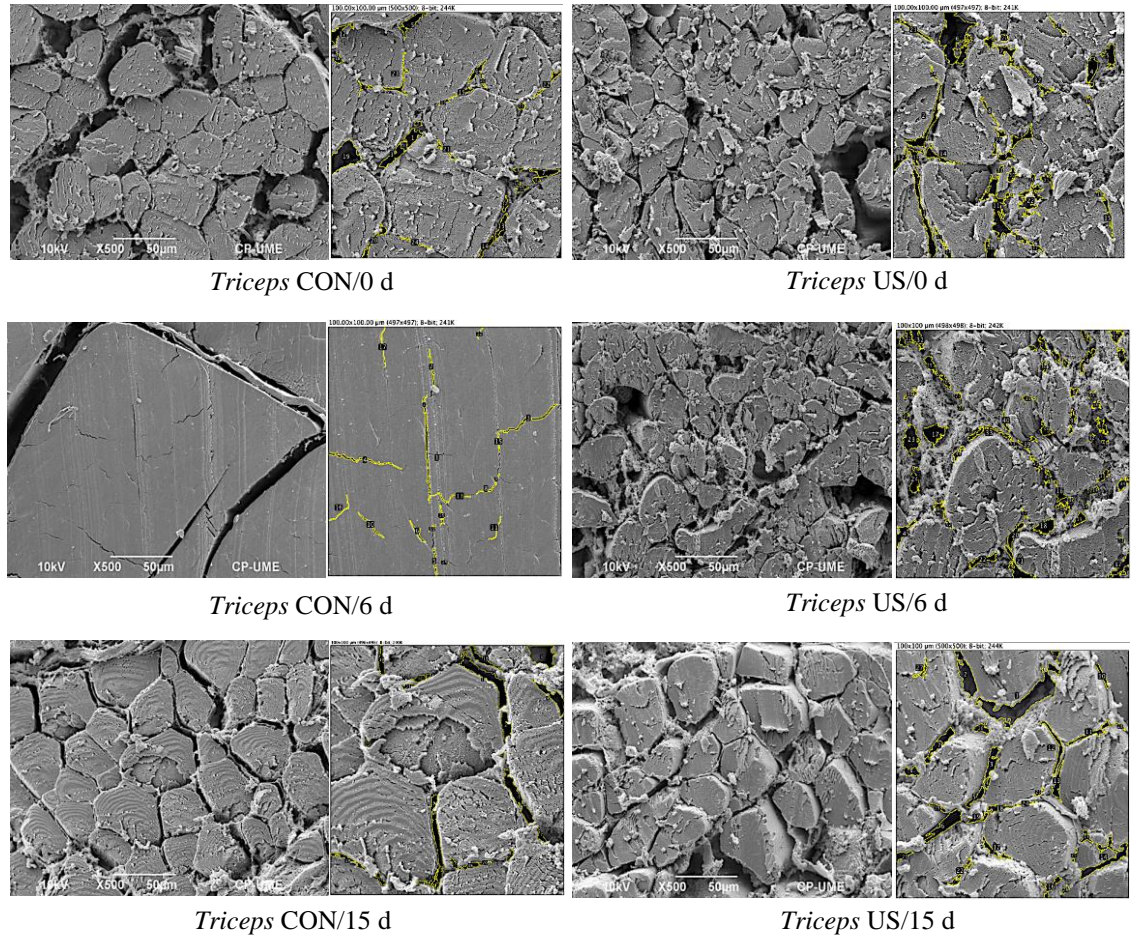


Figure 2. Microstructural changes in *Longissimus dorsi* from Creole Raramuri cattle without ultrasound (CON) and with ultrasound (US) during the storage period (0, 6 and 15 d). Scale bar = 50 μm , magnification 500 \times . The areas marked in yellow correspond to the areas of inter-fibrillar spaces in an area of 10,000 μm^2 .

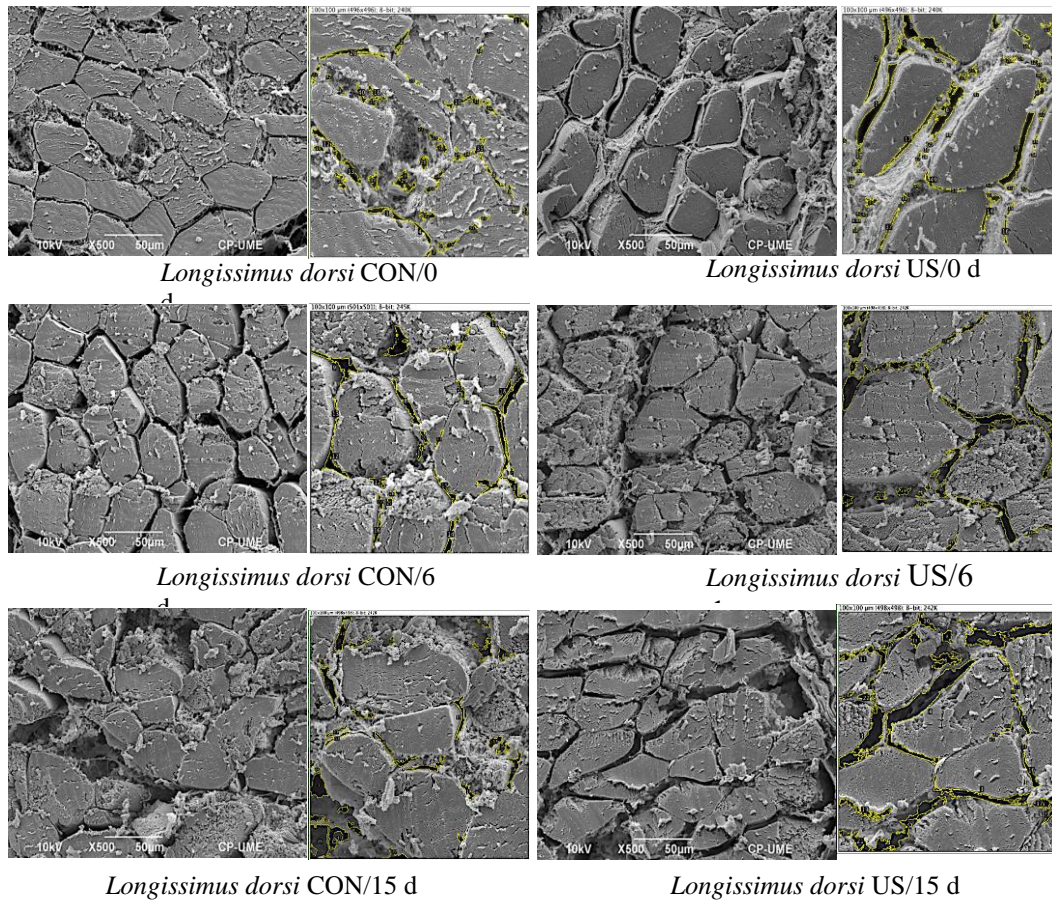


Figure 3. Microstructural changes in *Triceps brachii* from Raramuri Criollo cattle without ultrasound (CON) and with ultrasound (US) during the storage period (0, 6 and 15 d). Scale bar = 50 μm , magnification 500 \times . The areas marked in yellow correspond to the areas of inter-fibrillar spaces in an area of 10,000 μm^2 .

On the contrary, González-González et al. [6] observed visible changes in the structure of the fibers of three muscles (*Longissimus lumborum*, *Infraspinatus* and *Cleidocipital*) subjected to ultrasound at 40 kHz with an intensity of 11 W/cm² for 80 min. However, they did not report treatment effect over the interfibrillar space. The compact structure at 6 d of storage seems to be related to changes in the structure of myofibrillar proteins (myosin). According to Li et al. [44], ultrasound treatment of chicken paste suspensions increases gel strength, uniformity and compactness due to changes in the secondary structure of proteins (less alpha helices and more beta sheets). Ultrasound seems to induce protein oxidation due to cross-linking and protein aggregate formation, with negative effects on tenderness [45].

Table 3 confirms the increase in the *L. dorsi* shear force along with storage time. Although changes in interfibrillar space were observed at 15 d of storage, muscle hardness did not decrease at the end of the storage period. There is evidence that low frequency and high-intensity ultrasound induces disruption of the muscle structure [7, 34]. Peña-Gonzalez et al. [7] observed an increase in the distance between fibers and an increase in *L. dorsi* tenderness when applying ultrasound for 60 min after storage. However, those authors [7] applied ultrasound after meat had been stored.

CONCLUSIONS

The use of high intensity ultrasound for 20 min to *Triceps brachii* and *Longissimus dorsi* showed a decrease in shear force without negative effects on colour, pH, water holding capacity and drip loss of the meat. The use of ultrasound at a frequency of 45 kHz and intensity of 11 W/cm² for 20 min offers an alternative technique for tenderizing meat. More research is needed to characterize other meat quality characteristics from Raramuri Criollo cattle as information is still scarce.

Authors contributions: R.O.C.S.: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Writing – original draft, Methodology. I.A.G.G.: Conceptualization; Validation; Writing – review & editing; Methodology. E.S.E.: Data curation; Formal analysis; Writing – review & editing; Methodology. L.M.C.L.: Conceptualization; Validation; Writing – review & editing. M.H.J.: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Writing – review & editing. S.M.R. Methodology; Formal analysis; Resources. E.V.B.P.: Writing – review & editing. A.D.A.R. Conceptualization; Validation; Resources; Visualization; Writing – review & editing; Supervision.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was reviewed and approved by the Institutional Bioethics Committee of the Faculty of Animal Science and Ecology of the Autonomous University of Chihuahua, Mexico (Decision No. P/302/2017).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest

REFERENCES

1. FAO. *The Future of Food and Agriculture—Trends and Challenges*; FAO: Rome, Italy, 2017; Available online: <http://www.fao.org/3/i6583e/i6583e.pdf> (accessed on 19 July 2021).
2. Petrescu, D.C.; Vermeir, I.; Petrescu-Mag, R.M. Consumer understanding of food quality, healthiness, and environmental impact: A cross-national perspective. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17*, 169.
3. Turantas, F.; Kılıç, G.B.; Kılıç, B. Ultrasound in the meat industry: General applications and decontamination efficiency. *Int. J. Food Microbiol.* **2015**, *198*, 59–69.
4. Terefe, N.S.; Sikes, A.L.; Juliano, P. Ultrasound for structural modification of food products. In *Innovative Food Processing Technologies: Extraction, Separation, Component Modification and Process Intensification*; Knoerzer, K., Juliano, P., Smithers, G.W., Eds.; Woodhead Publishing: Cambridge, UK, 2016; pp. 209–230.
5. Leong, T.; Ashokkumar, M.; Kentish, S. The fundamentals of power ultrasound—a review. *Acoust. Aust.* **2011**, *39*, 43–52. Available online: <https://hdl.handle.net/11343/123494> (accessed on 25 March 2021).
6. Gonzalez-Gonzalez, L.; Alarcon-Rojo, A.D.; Carrillo-Lopez, L.M.; Garcia-Galicia, I.A.; Huerta-Jimenez, M.; Paniwnyk, L. Does ultrasound equally

- improve the quality of beef? An insight into longissimus lumborum, infraspinatus and cleidooccipitalis. *Meat Sci.* **2020**, *160*, 107963.
7. Peña-Gonzalez, E.; Alarcon-Rojo, A.D.; Garcia-Galicia, I.; Carrillo-Lopez, L.; Huerta-Jimenez, M. Ultrasound as a potential process to tenderize beef: Sensory and technological parameters. *Ultrason. Sonochem.* **2019**, *53*, 134–141.
 8. Biscarini, F.; Nicolazzi, E.L.; Stella, A.; Boettcher, P.J.; Gandini, G. Challenges and opportunities in genetic improvement of local livestock breeds. *Front. Genet.* **2015**, *6*, 33.
 9. Joost, S.; Bruford, M.W. Editorial: Advances in Farm Animal Genomic Resources. *Front. Genet.* **2015**, *6*, 333.
 10. Coutinho, P.; Simões, M.; Pereira, C.; Paiva, T. Sustainable local exploitation and innovation on meat products based on the autochthonous bovine breed jarmelista. *Sustainability* **2021**, *13*, 2515.
 11. Horcada-Ibáñez, A.; Polvillo-Polo, O.; Lafuente-García, A.; González-Redondo, P.; Molina-Alcalá, A.; Luque-Moya, A. Beef quality of native pajuna breed calves in two production systems. *Agrociencia* **2016**, *50*, 167–182.
 12. Avilez, J.P.; Nahed, J.; Mena, Y.; Grande, D.; Ruiz, F.A.; Camúñez, J.A.; Meyer, J.; Castel, J.M. Sustainability Assessment of Extensive Cattle and Sheep Production Systems in Southern Chile. *Chil. J. Agric. Anim. Sci.* **2021**, *37*, 228–243.
 13. Anderson, D.M.; Estell, R.E.; Gonzalez, A.L.; Cibils, A.F.; Torell, L.A. Criollo cattle: Heritage genetics for arid landscapes. *Rangelands* **2015**, *37*, 62–67.

14. Armstrong, E.; Rodriguez Almeida, F.A.; McIntosh, M.M.; Poli, M.; Cibils, A.F.; Martínez-Quintana, J.A.; Félix-Portillo, M.; Estell, R.E. Genetic and productive background of Criollo cattle in Argentina, Mexico, Uruguay and the United States. *J. Arid Environ.* **2022**, *200*, 104722.
15. Spiegel, S.; Cibils, A.F.; Bestelmeyer, B.T.; Steiner, J.L.; Estell, R.E.; Archer, D.W.; Auvermann, B.W.; Bestelmeyer, S.V.; Boucheron, L.E.; Cao, H.; et al. Beef Production in the Southwestern United States: Strategies Toward Sustainability. *Front. Sustain. Food Syst.* *2020*, *4*, 114. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00114>
16. Cheung, R.; McMahon, P. *Back to Grass: The Market Potential for US Grassfed Beef*; CONCORDIA; Stone Barns Center for Food and Agriculture: New York, NY, USA, 2017. Available online: <https://www.concordia.net/events/back-to-grass/> (accessed on 19 July 2021).
17. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*, 8th ed.; The National Academies Press: Washington, DC, USA, 2016.
18. Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014: Métodos Para dar Muerte a los Animales Domésticos y Silvestres. Available online: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5405210&fecha=26/08/2015 (accessed on 30 September 2021).
19. Moon, S.S.; Seong, P.N.; Jeong, J.Y. Evaluation of meat color and physiochemical characteristics in forequarter muscles of Holstein steers. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* **2015**, *35*, 646.

20. Honikel, K.O.; Hamm, R. Measurement of water-holding capacity and juiciness. In *Quality Attributes and Their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*; Springer: Boston, MA, USA, 1994; pp. 125–161.
21. Grau, R.; Hamm, R. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbildung im Muskel. *Naturwissenschaften* **1953**, *40*, 29–31.
22. Tsai, T.C.; Ockerman, H.W. Water binding measurement of meat. *J. Food Sci.* **1981**, *46*, 697–701.
23. AMSA, 2016. Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat. Available online: <https://meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/amsa-sensory-and-tenderness-evaluation-guidelines/research-guide/amsa-research-guidelines-for-cookery-and-evaluation-1-02.pdf?sfvrsn=2> (accessed on 19 July 2021).
24. ISO 3496:1994; Determination of Hydroxyproline Content (Reference Method). International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 1994.
25. Molee, W.; Khosinklang, W.; Tongduang, P.; Thumanu, K.; Yongsawatdigul, J.; Molee, A. Biomolecules, fatty acids, meat quality, and growth performance of slow-growing chickens in an organic raising system. *Animals* **2022**, *12*, 570.
26. SAS Institute. *SAS/STAT User's Guide*; SAS Inst. Inc.: Cary, NC, USA, 2004.
27. Neethling, N.E.; Suman, S.P.; Sigge, G.O.; Hoffman, L.C.; Hunt, M.C. exogenous and endogenous factors influencing color of fresh meat from

- ungulates. *Meat Muscle Biol.* **2017**, *1*.
28. Hughes, J.M.; Clarke, F.M.; Purslow, P.P.; Warner, R.D. Meat color is determined not only by chromatic heme pigments but also by the physical structure and achromatic light scattering properties of the muscle. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2020**, *19*, 44–63.
29. Orellana, C.; Peña, F.; García, A.; Perea, J.; Martos, J.; Domenech, V.; Acero, R. Carcass characteristics, fatty acid composition, and meat quality of Criollo Argentino and Braford steers raised on forage in a semi-tropical region of Argentina. *Meat Sci.* **2009**, *81*, 57–64.
30. Sañudo, C.; Albertí, P.; Campo, M.M.; Olleta, J.L.; Panea, B. Instrumental quality of beef meat from seven Spanish breeds. *Arch. Zootec.* **1998**, *47*, 397–402.
31. CIE. *Colorimetry*, 2nd ed.; CIE Publications: Vienna, Austria, 1986.
32. Lawrie, R.A.; Ledward, D. *Lawrie's Meat Science*, 7th ed.; Woodhead Publishing: Cambridge, UK, 2006.
33. Gallinger, M.M.; Garriz, C.; Mezzadra, C. Calidad de la carne de novillos Criollo Argentino, A. Angus y sus cruzas recíprocas. *Rev. Arg. Prod. Anim.* **1992**, *12*, 125–126.
34. Chang, H.J.; Wang, Q.; Tang, C.H.; Zhou, G.H. Effects of ultrasound treatment on connective tissue collagen and meat quality of beef semitendinosus muscle. *J. Food Qual.* **2015**, *38*, 256–267.
35. Van Wijngaarden, L. Mechanics of collapsing cavitation bubbles. *Ultrason Sonochem.* **2016**, *29*, 524–527.
36. Barekat, S.; Soltanizadeh, N. Effects of ultrasound on microstructure and

- enzyme penetration in beef longissimus lumborum muscle. *Food Bioproc. Tech.* **2018**, *11*, 680–693.
37. Fallavena, L.P.; Marczak, L.D.F.; Mercali, G.D. Ultrasound application for quality improvement of beef Biceps femoris physico-chemical characteristics. *LWT Food Sci Technol.* **2020**, *118*, 108817.
38. Kaur, L.; Hui, S.X.; Morton, J.D.; Kaur, R.; Chian, F.M.; Boland, M. Endogenous Proteolytic Systems and Meat Tenderness: Influence of Post-Mortem Storage and Processing. *Food Sci. Anim. Resour.* **2021**, *41*, 589–607.
39. Bhat, Z.F.; Morton, J.D.; Mason, S.L.; Bekhit, A.E.D.A. Role of Calpain System in Meat Tenderness: A Review. *Food Sci. Hum. Wellness* **2018**, *7*, 196–204.
40. Gagaoua, M.; Monteils, V.; Couvreur, S.; Picard, B. Beef Tenderness Prediction by a Combination of Statistical Methods: Chemometrics and Supervised Learning to Manage Integrative Farm-To-Meat Continuum Data. *Foods* **2019**, *8*, 274.
41. Li, G.; Wan, Y.; Song, X.; Wang, Y.; Zan, L.; Zhu, J. Effects of various processing methods on the ultrastructure of tendon collagen fibrils from Qinchuan beef cattle observed with atomic force microscopy. *J. Food Qual.* **2018**.
42. Nishimura, T.; Liu, A.; Hattori, A.; Takahashi, K. Changes in mechanical strength of intramuscular connective tissue during postmortem aging of beef. *J. Anim. Sci.* **1998**, *76*, 528–532.
43. Carrillo-Lopez, L.M.; Huerta-Jimenez, M.; Garcia-Galicia, I.A.; Alarcon-Rojo,

- A.D. Bacterial control and structural and physico-chemical modification of bovine Longissimus dorsi by ultrasound. *Ultrason Sonochem.* **2019**, *58*, 104608.
44. Li, K.; Kang, Z.-L.; Zhao, Y.-Y.; Xu, X.-L.; Zhou, G.-H. Use of high-intensity ultrasound to improve functional properties of batter suspensions prepared from pse-like chicken breast meat. *Food Bioprocess Technol.* **2014**, *7*, 3466–3477.
45. Zhang, W.; Xiao, S.; Ahn, D.U. Protein oxidation: Basic principles and implications for meat quality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2013**, *53*, 1191–1201.

**ESTUDIO III.- HIGH-FREQUENCY FOCUSED ULTRASOUND ON QUALITY
TRAITS OF BOVINE *TRICEPS BRACHII* MUSCLE**

BY:

Reyes Omaro Caraveo-Suarez¹, Iván Adrián García-Galicia¹, Eduardo Santellano-Estrada¹, Luis Manuel Carrillo-Lopez^{1,2*}, Mariana Huerta-Jimenez^{1,2}, Einar Vargas-Bello-Pérez^{1,3}. and Alma Delia Alarcon-Rojo^{1*}.

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

Francisco R. Almada km 1, Chihuahua 31453, Chih., Mexico;
p225247@uach.mx (R.O.C.-S.); igarciag@uach.mx (I.A.G.-G.);
esantellano@uach.mx (E.S.-E.); mhuertaj@uach.mx (M.H.-J.);
evargasb@sund.ku.dk (E.V.-B.-P.)

² Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito Constructor, Del. Benito Juárez, Ciudad de México C.P. 03940, Mexico.

³ Department of Veterinary and Animal Sciences, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Grønnegårdsvej 3, DK-1870 Frederiksberg C, Denmark.

Foods 2021. 10(9):2074. <https://doi.org/10.3390/foods10092074>

RESUMEN

EFFECTO DEL ULTRASONIDO DE ALTA FRECUENCIA FOCALIZADO SOBRE
LAS PROPIEADES DE CALIDAD DE MÚSCULO *TRICEPS BRACHII* BOVINO

POR:

M.C. REYES OMARO CARAVEO SUÁREZ

Doctorado in Philosophia en Producción Animal

Universidad Autónoma de Chihuahua

Facultad de Zootecnia y Ecología

Secretaría de Investigación y Posgrado

Presidente: Ph. D Alma Delia Alarcón Rojo

El ultrasonido de alta frecuencia se utiliza generalmente como un método no destructivo y rápido para asegurar la calidad y el control del proceso con especial referencia a las propiedades fisicoquímicas, como la composición, la estructura, estado físico y propiedades moleculares de los alimentos. Este tipo de ultrasonido tiene uso en diferentes aplicaciones, como control de calidad de alimentos, mejora en la transferencia de masa, conservación de alimentos, mejora de la textura, etc. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del ultrasonido focalizado de alta frecuencia (HFFU) sobre las características fisicoquímicas de la carne (pH, color, capacidad de retención de agua y esfuerzo

de corte). Se aplicó tratamiento de HFFU a 2 MHz de frecuencia e intensidad de 1.5 W/cm^2 en músculo *Triceps brachii* (brazuelo) de res durante 10, 20 y 30 min. Se eligió el músculo *T. brachii* por ser un músculo relativamente duro. La aplicación de HFFU disminuyó ligeramente el color rojo de la carne (a^*). Sin embargo, no se observó efecto en los otros parámetros de color luminosidad (L^*), tendencia al amarillo (b^*), saturación (C^*) y ángulo de tono (HUE), pérdida por goteo y capacidad de retención de agua de la carne. Además, se observó una disminución significativa de la dureza de la carne después de la aplicación de HFFU en los diferentes tiempos siendo el de 30 min el que presentó el valor más bajo de esfuerzo de corte. En general, el tratamiento de HFFU mejoró la terniza de la carne sin efectos negativos en las demás propiedades de la calidad. Además, el HFFU podría ofrecer la opción de mejorar la terniza en músculos específicos o regiones anatómicas de la canal sin necesidad de realizar cortes reduciendo las pérdidas en el proceso. Estos hallazgos proporcionan nuevos conocimientos sobre la posible aplicación de del ultrasonido en el procesamiento de la carne.

ABSTRACT

HIGH-FREQUENCY FOCUSED ULTRASOUND ON QUALITY TRAITS OF BOVINE TRICEPS BRACHII MUSCLE

BY:

M.C REYES OMARO CARAVEO SUÁREZ

This aim of this study was to evaluate the effect of high-frequency focused ultrasound (HFFU) on quality traits of bovine Triceps brachii. Four treatments (0, 10, 20, and 30 min) of HFFU (2 MHz and 1.5 W/cm²) were applied to bovine T. brachii muscle. Immediately after treatment, evaluations of color, pH, drip loss, water holding capacity, and shear force in meat were undertaken. The application of HFFU slightly decreased ($p < 0.05$) the redness of meat. In addition, a significant ($p < 0.05$) decrease in the shear force of meat was observed after the application of HFFU at 30 min. No effect ($p > 0.05$) was observed on other color parameters, drip loss, and water holding capacity of meat. Overall, HFFU improved beef tenderness without negative impacts on color, pH, drip loss, and water holding capacity of meat. HFFU offers the option of tenderizing specific muscles or anatomical regions of the beef carcass. These findings provide new insights into the potential application of ultrasound in meat processing.

Keywords: high-frequency ultrasound; focused-ultrasound; beef tenderness; meat color.

INTRODUCTION

Ultrasound is considered an emerging method with significant potential to control, improve, and accelerate processes without damaging the quality of food products [1]. Ultrasound refers to the sound waves beyond the audible frequency range that are generally above 20 kHz. When ultrasound passes through a liquid medium, the interaction between the ultrasonic waves, the liquid, and the dissolved gas leads to a phenomenon known as cavitation [2]. During the past decade, the use of power ultrasound has become an alternative non-thermal food processing technique. Ultrasound, alone or in combination with other methods, has been shown to be a potential tool to improve meat quality parameters, such as tenderness, functional properties of proteins, shelf life, and mass transfer [3]. Additionally, ultrasound helps to reduce the use of salt in processed meats, improve cooking, and inactivate microorganisms in meat and derived products [4]. Ultrasound has also been shown to have a positive effect on meat tenderness because it causes alterations of muscle integrity and collagen structure [5]. It can also reduce brine time without affecting meat quality, while improving salt diffusion rates [4]. It has been reported that ultrasound increases water retention capacity and cohesion in meat and meat products [5].

Ultrasound at high frequency (1–10 MHz; HFU) is used as a method to monitor the composition and physicochemical properties of food components and products during processing [6,7,8]. Within the frequency range of 400–600 kHz, the production of hydroxyl radicals causes oxidative degradation in an aqueous system. It is possible that these physical and chemical effects cause modifications

in the tenderness and other physical properties, such as color and water retention, of meat that is subjected to an ultrasound treatment [9]. Acoustic cavitation, defined as the formation of bubbles in a medium exposed to an ultrasonic field, plays an important role in the mechanical, chemical, and optical effects of ultrasound on biological tissues [10]. These bubbles oscillate, gradually expand, and finally disintegrate by a violent and asymmetric collapse [11].

Within the field of food science, ultrasound has focused on equipment with high intensities and low frequencies (~20 kHz); however, this condition lacks the focusing characteristic when transmitting the ultrasound waves to the diffusion medium. In recent years, significant interest has been paid to therapeutic applications of ultrasound due to its ability to noninvasively penetrate deep into tissue [10]. The development of ultrasound transducer technology has led to the development of focused ultrasound technology (FUS). FUS at high intensities, known as high-intensity focused ultrasound (HIFU), has been used to mechanically fractionate soft tissues [11]. The mechanism of action of FUS is to focus the ultrasonic waves and transfer enough acoustic energy in a small area. A high degree of focus allows ultrasonic energy to pass through the tissue without causing excessive heating, leading to faster treatment times [12]. Although FUS has been mainly used in the medical area, this ultrasound technology has significant potential for application in the meat industry. Until now, no study has been reported on the use of high frequency for meat quality improvement.

Some beef muscles are tough and there is a need for alternative technologies to improve this trait. In the present study, bovine Triceps brachii was

chosen due to its high toughness and low economic value; thus, any improvement in its quality traits would be considered an advantage. We hypothesized that the physical effects generated during high-frequency cavitation are not strong enough to produce the shear force necessary to induce changes in meat structure and composition. Therefore, the objective of this study was to determine the effect of high-frequency focused ultrasound on meat quality traits of bovine *Triceps brachii*.

MATERIALS AND METHODS

Meat samples were obtained from bovine *Triceps brachii* muscle from the Raramuri Criollo breed slaughtered according to the Official Mexican Regulations for slaughtering domestic and wild animals (NOM-033-SAG/ZOO-2014). After 48 h post mortem, *T. brachii* was separated from the carcass, cut into 2.5 cm slices and assigned for study treatments. A Chattanooga brand Intelect® NEO (DJO Ltd., Guildford, UK) ultrasound module was used for the high-frequency focused ultrasound (HFFU) application. The module was equipped with a large head ($\theta = 5$ cm) at a frequency of 1 MHz and an intensity of 1.5 W/cm² for 0 (control, non-sonicated), 10, 20, and 30 min (based on results of previous experiments), leaving the head fixed on a metal base for all the treatment times.

Color was measured using a Minolta colorimeter (Model CR-400, Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan) based on the color co-ordinates, namely L*, a*, b*, C*, and H°. The Delta E (ΔE) value was calculated to obtain the difference between the color of the control and sonicated samples. Between each sonication time, temperature control was carried out by allowing the ultrasound head to cool in a container with ice and water. The area for color measurement was the entire

tissue surface that had contact with the head of the ultrasound (both sides of the slice). The meat pH was recorded randomly at three different positions within the sample using a pH meter (Hanna Instruments 99163, Nusfalau, Rumania).

Meat drip loss was evaluated following the method of Honikel and Hamm [13], in which 3 g of meat samples was suspended inside a plastic container and stored for 48 h at 4 °C. Drip loss was calculated by weight difference and expressed as percentage. WHC was determined by the press method [14], as modified by Tsai and Ockerman [15]. The shear force (SF) was measured using the method described by the American Meat Science Association [16]. Briefly, samples were cooked on grills until the meat reached 70 ± 1 °C at the geometric center. Subsequently, the samples were stored at 4 °C for 24 h, then 6 cylinders with a diameter of 12.7 mm were obtained parallel to the longitudinal orientation of the muscle fibers. The cylinders were cut using a Warner Bratzler blade in a “V” shape (60° triangular opening) at a speed of 2.0 mm/s. The maximum force (Newtons) to cut each cylinder transversely was recorded with a TA-TX-plus texture analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, UK). Data were analyzed with the statistical package SAS 9.4 [17] using the GLM general linear model procedure ($p \leq 0.05$). The time of ultrasound treatment was classified as a class variable. When ultrasound, time, or ultrasound \times time interactions were significant ($p \leq 0.05$), a Tukey test was performed to compare means. The results are expressed as the mean \pm standard error (S.E.) of three replicates.

RESULTS AND DISCUSSION

A significant effect ($p < 0.05$) of HFFU treatment was observed in the color variables a^* and ΔE (Table 1), and in pH and SF (Figure 1). The color variables L^* , b^* , C^* , and Hue angle (H^*) were similar ($p > 0.05$) between HFFU application times. The control (0 min ultrasound treatment) had the highest ($p < 0.05$) redness ($a^* = 22.05$), whereas at 20 min it had the lowest value ($a^* = 16.70$). The a^* value is related to the amount of myoglobin present in the meat [18]. In this study, the ultrasound frequency and application time decreased the a^* value as the sonication time of the samples increased. Although the a^* values for the 10, 20, and 30 min sonication were nominally different (Table 1), they were statistically similar ($p < 0.05$) and only different from the control (0 min ultrasound) treatment.

Meat color is sensitive to ultrasound. Several reports have shown that the redness of meat is affected by different ultrasound intensities and frequencies [19, 20, 21]. The observed changes in color can be caused by cavitation, which may accelerate chemical, physical, and enzymatic changes in meat [22]. As a consequence, the degradation of the compounds responsible for color during ultrasound treatment may be related to oxidation reactions promoted by interaction with free radicals formed during sonication [23]. These reactions could be responsible of the changes in red color observed in meat after HFFU application at the three sonicated times (10, 20, or 30 min). Many studies have shown that ultrasound treatment does not affect color variables. In consequence, in this study, there were no significant differences between sonicated samples and control samples.

Table 1. Tukey Studentized Range Test (HSD) for trichromatic variables of bovine *Triceps brachii* after ultrasound treatment at different times.

Treatment ²	CIE L*a*b* ¹					ΔE
	L*	a*	b*	C*	H*	
Control	36.34±8.98 ^a	22.05±1.28 ^a	12.64±1.75 ^a	25.42±1.10 ^a	29.85±14.38 ^a	0.00 ^a
US10	38.05±8.98 ^a	17.41±1.28 ^b	10.76±1.75 ^a	20.49±1.10 ^a	31.64±14.38 ^a	6.77 ^b
US20	37.38±8.98 ^a	16.70±1.28 ^b	11.27±1.75 ^a	20.20±1.10 ^a	33.88±14.38 ^a	7.60 ^c
US30	37.97±8.98 ^a	19.37±1.28 ^{ab}	11.65±1.75 ^a	22.64±1.10 ^a	31.15±14.38 ^a	5.26 ^d

¹L*=luminosity, a*=redness, b*=yellowness, C*=chroma, H*= hue angle, ΔE = Delta-E, the color difference.

²Control= Meat without ultrasound treatment, US10= Meat with the application of 10 min ultrasound, US20= Meat with the application of 20 min ultrasound, US30= Meat with the application of 30 min ultrasound.

^{a-d} Different letters within the same column denote significant difference (P < 0.05).

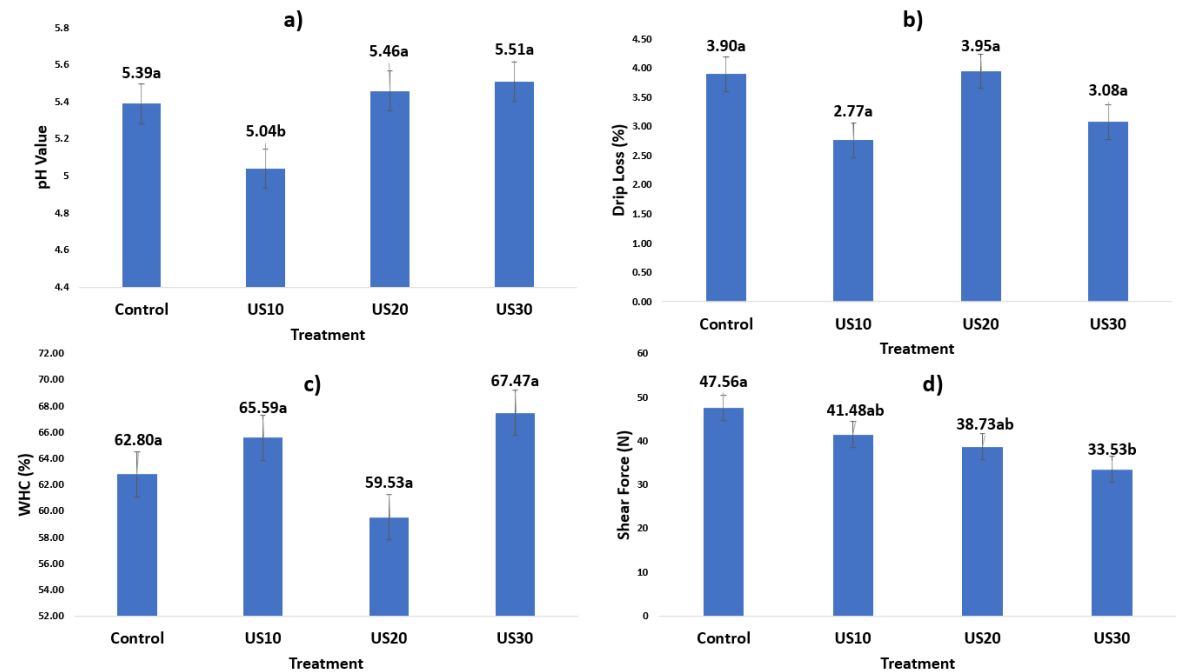


Figure 1. Meat quality traits after high-frequency focused ultrasound application. (a) pH value, (b) drip loss (DL), (c) water holding capacity (WHC), (d) shear force. Treatments: Control = meat without ultrasound treatment, US10 = meat with the application of 10 min ultrasound, US20 = meat with the application of 20 min ultrasound, US30 = meat with the application of 30 min ultrasound. ^{a,b} Different letters within the same trait denote significant difference ($p < 0.05$).

It has been proposed that although the temperature increases during ultrasound treatment when using ultrasonic baths, the heat generated is insufficient for thermal denaturation and oxidation of color pigments such as myoglobin and metmyoglobin. This is because the generated heat dissipates in the diffusion medium and, thus, it is not possible to observe an effect on color variables [3]. However, in the present study, the frequency and time of sonication affected the proportions of a^* in the meat. This is probably because of chemical changes in the tissue when exposed to long periods of the probe. It is also known that any increase in molecular vibration in tissue may result in the generation of heat. The 10 min ultrasound application was the only treatment that showed a significant effect on meat pH ($p < 0.05$) (Figure 1). Ten minutes ultrasonication presented the lowest pH (5.04), compared to the other treatments (5.39, 5.46, and 5.51 for control, 20, and 30 min, respectively). pH changes may be due to a release of ions from the cell structure to the cytosol [19]. Additionally, changes in the structure of proteins and the position of some ionic groups by cavitation causes the rupture of the cell membranes and the release of material from inside the cells to the extracellular medium [24]. This may explain the variation of the pH in the 10 min treatment, because this release occurs in the first minutes and no further changes in pH were found in higher ultrasound application times. This probably explains the difference between times of ultrasonication, because the intracellular compounds released from the extracellular medium could stabilize the pH at 20 and 30 min.

No significant differences ($p > 0.05$) were found in WHC and DL of meat among treatments. The change in pH did not impact WHC and DL, probably because a higher number of samples was needed for the HFFU application. This was the first time HFFU equipment was used in meat and the technique is not yet well established. For SF, significant differences ($p < 0.05$) were observed among treatments. The control treatment showed the highest value (47.53 N), with a tendency to decrease as ultrasound time increased. The 30 min treatment presented the lowest value (33.53 N). It was found that the highest WHC value presented lower SF values. Beef tenderness is a complex trait that depends on muscle work and the presence of connective tissue. Some muscles have a large amount of collagen and a high level of crosslinking and connective tissue [25]. *Triceps brachii* is a tough muscle [26,27] but, like other muscles subjected to ultrasound application, such as *Longissimus dorsi*, *lumborum*, and *Semitendinosus* [27,28], *triceps brachii* may present a tendency to decrease its shear force. However, Got et al. [24] reported no effect of ultrasound treatment at a frequency of 2.6 MHz in the beef *Semimembranosus* muscle. This is probably because the use of frequencies above 1 MHz shows a relatively lower cavitation activity due to the temperature reached by the bubbles and an insufficient time for the cavitation bubbles to collapse [29]. Similarly, Sikes [30] found no significant differences in the shear force of the *Sternomandibularis* muscle subjected to ultrasound treatment at a frequency of 2 MHz for 10 min. The lack of effect may be attributed to the conditions used in the experiment. It is necessary to focus the energy on the target area and not dissipate it in the medium to obtain cavitation. Such a condition can be achieved using focused transducers. In the present

study, the focused transducer was capable of tenderizing meat only in the sonicated area, which could be of practical importance, particularly when only specific meat areas need to be tenderized.

The type of muscle may influence the shear force response to ultrasonication [27,30]. *T. brachii* has a large amount of connective tissue, which does not allow the penetration of ultrasound waves. Hoogland [31] studied the penetration of high-frequency ultrasound waves on different tissues and reported that the frequency of 1 MHz has penetration values of 9 mm in muscle, 50 mm in fat, and 6.2 mm in tendon, presenting a tendency to decrease as the frequency is increased. At frequencies of 3 MHz, the wave penetration values were 3, 16.5, and 2 mm for muscle, fat, and connective tissue, respectively. Got [24] and Sikes [25] used 650 KHz, 850 KHz, and 2.6 MHz. These frequencies were too high to achieve enough ultrasound penetration and, in those studies, they did not use focused technology. The main challenge of this technique is to maximize the accumulation of energy in the targeted area, in order to induce a higher effect without causing damage to the tissue surrounding the area. The focused technology of HFFU has adopted strategies to solve this problem. One is to use generated high-energy ultrasound waves and focus them on a small point (head) [31].

Ultrasonic focused application consists of the ultrasonic transducer being brought into direct contact with the surface. However, there is a small air gap between the transducer and the receiver. This is a critical problem for transmitting the acoustic signal due to the high transmission losses of the signal to the environment; in contrast, by ensuring a continuous contact, the ultrasound waves

are transmitted efficiently [32]. This problem can be solved by using a coupling medium between the transducer and the treatment surface [33]. In the case of meat, the muscle exudate may be a good coupling medium. It is not always necessary to use a coupler if the transducer is in direct contact with the food sample [34].

The thermal effect of HIFU is caused by the absorption of ultrasonic waves, which cause vibration or rotation of molecules in the tissue, and this movement results in frictional heat. Depending on the temperature and duration of contact, the tissue may become more susceptible to increased heat or to the development of protein denaturation [11,12,35]. The mechanical and thermal effects caused by acoustic cavitation may be undesirable [10], particularly in the case of meat, because high temperatures can affect the appearance of the meat, leading to consumer rejection. Finally, the lack of differences in meat WHC and DL due to HFFU may be due to the specific conditions of this study. It is important to note that WHC and DL values were within normal values for beef [25], so no detrimental effects on meat quality were detected.

CONCLUSIONS

Ultrasound is considered to be an emerging technology that, in some conditions, improves the physicochemical quality of meat. This study determined the effect of high-frequency focused ultrasound on meat traits of a tough and low-value bovine muscle such as *Triceps brachii*. Overall, the use of HFFU at 1 MHz on *T. brachii* decreased the shear force and this effect was proportional to sonication time. The use of HFFU for 30 min yielded tender meat without detrimental changes in other

technological properties. HFFU may be considered as a strategy to positively influence the tenderness of *T. brachii*. However, HFFU on different tough muscles needs to be further investigated and consumer acceptance should be included in those studies. HFFU technology allows ultrasound waves to be concentrated in a specific anatomical point in order to improve quality traits and improve the value of beef carcasses. In addition, focused ultrasound has the potential to be used in combination with other technologies, such as enzyme addition and tumbling, which are commonly used in the food industry.

Author Contributions: Conceptualization, I.A.G.-G.; R.O.C.-S. and A.D.A.-R.; methodology, R.O.C.-S.; I.A.G.-G.; software, R.O.C.-S. and E.S.-E.; validation, I.A.G.-G. and A.D.A.-R.; formal analysis, R.O.C.-S.; investigation, R.O.C.-S.; resources, A.D.A.-R. and I.A.G.-G.; data curation, R.O.C.-S.; writing—original draft preparation, R.O.C.-S. and A.D.A.-R.; writing—review and editing, I.A.G.-G.; A.D.A.-R.; L.M.C.-L.; M.H.-J. and E.V.-B.-P.; visualization, I.A.G.-G.; L.M.C.-L.; M.H.-J.; A.D.A.-R.; E.V.-B.-P.; supervision, I.A.G.-G. and A.D.A.-R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Ashokkumar, M.; Mason, T.J. Sonochemistry. In Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology; Kirk-Othmer, Ed.; John Wiley and Sons Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2007.
2. Ashokkumar, M. The characterization of acoustic cavitation bubbles an overview. *Ultrason. Sonochem.* 2011, 18, 864–872, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.016.
3. Jayasooriya, S.D.; Torley, P.J.; D'Arcy, B.R.; Bhandari, B.R. Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine Semitendinosus and Longissimus muscles. *Meat Sci.* 2007, 75, 628–639.
4. Ojha, K.S.; Keenan, D.F.; Bright, A.; Kerry, J.P.; Tiwari, B.K. Ultrasound assisted diffusion of sodium salt replacer and effect on physicochemical properties of pork meat. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2016, 51, 37–45, doi.org/10.1111/ijfs.13001.
5. Xiong, G.; Zhang, L.; Zhan, G.W.; Wu, J. Influence of ultrasound and proteolytic enzyme inhibitors on muscle degradation, tenderness, and cooking loss of hens during aging. *Czech. J. Food Sci.* 2012, 30, 195–205, doi.org/10.17221/136/2011-CJFS.
6. Awad, T.S.; Moharram, H.A.; Shaltout, O.E.; Asker, D.; Youssef, M.M. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Res. Int.* 2012, 48, 410–427, doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.004.

7. Chemat, F.; Zill-e-Huma; Khan, M.K. Applications of ultrasound in food technology: Processing preservation and extraction. *Ultrason. Sonochem.* 2011, 18, 813–835, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023.
8. Leong, T.; Ashokkumar, M.; Kentish, S. The fundamentals of power ultrasound-a review. *Acoust. Aust.* 2011, 39, 43–52.
9. Dalecki, D. Mechanical bioeffects of ultrasound. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2004, 6, 229–248, doi.org/ 10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140126.
10. Baek, H.; Pahk, K.J.; Kim, H. A review of low-intensity focused ultrasound for neuromodulation. *Biom. Eng. Lett.* 2017, 7, 135–142, doi.org/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140126.
11. Ter Haar, G. Therapeutic applications of ultrasound. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2007, 93, 111–129, doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2006.07.005.
12. Jewell, M.L.; Solish, N.J.; Desilets, C.S. Noninvasive body sculpting technologies with an emphasis on high-intensity focused ultrasound. *Aesthet. Plast. Surg.* 2011, 35, 901–912, doi.org/10.1007/s00266-011-9700-5.
13. Honikel, K.O.; Hamm, R. Measurement of water-holding capacity and juiciness. In *Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*; Pearson, A.M., Dutson, T.R., Eds.; Springer US: Boston, MA, USA, 1994; p. 125–161.
14. Grau, R.; Hamm, R. Eine einfache methode zur bestimmung der wasserbildung im muskel *Sci. Nat.* 1953, 40, 29–31, doi.org/10.1007/BF00595734.
15. Tsai, T.C.; Ockerman, H.W. Water binding measurement of meat. *J. Food Sci* 1981, 46, 697–701, doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb15328.x.

16. AMSA. Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat; AMSA: Champaign, IL, USA, 2016
17. SAS, Institute. In SAS/STAT User's Guide; SAS Inst. Inc.: Cary, NC, USA, 2004.
18. Ripoll, G.; Albertí, P.; Joy, M. Influence of alfalfa grazing-based feeding systems on carcass fat colour and meat quality of light lambs. *Meat Sci.* 2012, 90, 457–464, doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.09.007.
19. Alarcon-Rojo, A.D.; Carrillo-Lopez, L.M.; Reyes-Villagrana, R.; Huerta-Jiménez, M.; Garcia-Galicia, I.A. Ultrasound and meat quality: A review. *Ultrason. Sonochem.* 2019, 55, 369–382, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.016.
20. Peña-Gonzalez, E.; Alarcon-Rojo, A.D.; Garcia-Galicia, I.; Carrillo-Lopez, L.; Huerta-Jimenez, M. Ultrasound as a potential process to tenderize beef: Sensory and technological parameters. *Ultrason. Sonochem.* 2019, 53, 134–141, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.12.045.
21. Stadnik, J.; Dolatowski, Z.J. Influence of sonication on Warner-Bratzler shear force, colour and myoglobin of beef (*m. semimembranosus*). *Eur. Food Res. Technol.* 2011, 233, 553–559, doi.org/10.1007/s00217-011-1550-5.
22. Sala, F.J.; Burgos, J.; Condón, S.; Lopez, P.; Raso, J. Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In *New Methods of Food Preservation*; Gould, J.W., Ed.; Springer: Boston, MA, USA, 1995.

23. Portenlänger, G.; Heusinger, H. Chemical reactions induced by ultrasound and γ -rays in aqueous solutions of l-ascorbic acid. *Carbohydr Res.* 1992, 232, 291–301, doi.org/10.1016/0008-6215(92)80061-5.
24. Got, F.; Culioli, J.; Berge, P.; Vignon, X.; Astruc, T.; Quideau, J.M.; Lethiecq, M. Effects of high-intensity high-frequency ultrasound on aging rate, ultrastructure and some physico-chemical properties of beef. *Meat Sci.* 1999, 51, 35–42, doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00094-1.
25. Lawrie, R.A.; Ledward, D.A. *Lawrie's Meat Science*; Woodhead Publishing: Cornwall, UK, 2006.
26. Belew, J.B.; Brooks, J.C.; McKenna, D.R.; Savell, J.W. Warner-Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. *Meat Sci.* 2003, 64, 507–512, doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00242-5.
27. Gonzalez-Gonzalez, L.; Alarcon-Rojo, A.D.; Carrillo-Lopez, L.M.; Garcia-Galicia, I.A.; Huerta-Jimenez, M.; Paniwnyk, L. Does ultrasound equally improve the quality of beef? An insight into longissimus lumborum, infraspinatus and cleidooccipitalis. *Meat Sci.* 2020, 160, 107963, doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107963.
28. Garcia-Galicia, I.A.; Gonzalez-Vacame, V.G.; Huerta-Jimenez, M.; Carrillo-Lopez, L.M.; Tirado-Gallegos, J.M.; Reyes-Villagrana, R.A.; Alarcon-Rojo, A.D. Ultrasound Versus traditional ageing: Physicochemical properties in beef longissimus lumborum. *CyTA-J. Food* 2020, 18, 675–682, doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107963.
29. Ashokkumar, M.; Sunartio, D.; Kentish, S.; Mawson, R.; Simons, L.; Vilkhuk, K.; Versteeg, C. Modification of food ingredients by ultrasound to improve

- functionality: A preliminary study on a model system. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2008, 9, 155–160, doi.org/10.1016/j.ifset.2007.05.005.
30. Sikes, A.L.; Mawson, R.; Stark, J.; Warner, R. Quality properties of pre-and post-rigor beef muscle after interventions with high frequency ultrasound. *Ultrason. Sonochem.* 2014, 21, 2138–2143, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.03.008.
31. Kim, Y.-S.; Rhim, H.; Choi, M.J.; Lim, H.K.; Choi, D. High-intensity focused ultrasound therapy: an overview for radiologists. *Korean J. Radiol.* 2008, 9, 291–302, doi.org/10.3348/kjr.2008.9.4.291.
32. Bindal, V.N. Water-based couplants for general purpose use for ultrasonic NDT applications. *J. Sci. Ind. Res. (India)* 2000, 59, 935–939.
33. Theobald, P.; Zeqiri, B.; Avison, J. Couplants and their influence on AE sensor sensitivity. *J. Acoust. Emiss.* 2008, 26, 91–97.
34. García-Álvarez, J.; Rosell, C.M.; García-Hernández, M.J.; Chávez, J.A.; Turó, A.; Salazar, J. Ultrasonic analysis to discriminate bread dough of different types of flour. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 2012, 42, 012042, doi.org/10.1088/1757-899X/42/1/012042.
35. Kennedy, J.E.; Ter Haar, G.R.; Cranston, D. High intensity focused ultrasound: Surgery of the future?. *Br. J. Radiol.* 2003, 76, 590–599, doi.org/10.1259/bjr/17150274.

CONCLUSIONES GENERALES

Se llevaron a cabo tres estudios con el objetivo de determinar el efecto de la aplicación de ultrasonido sobre la calidad de la carne de la raza Criollo Rarámuri. El primer estudio fue un análisis multivariado de datos de estudios previos para determinar estadísticamente cual tratamiento con UAI arrojaba los mejores resultados. La aplicación de 20 min de ultrasonido a una frecuencia de 45 kHz demostró ser el mejor tratamiento de acuerdo a la calidad de la carne. En un segundo estudio se aplicaron 45 kHz a cortes de carne de ganado Criollo Rarámuri y se observó un efecto positivo en la disminución del esfuerzo de corte en las muestras sometidas a tratamiento sin afectar las demás variables fisicoquímicas lo cual presenta una alternativa para mejorar la calidad de la carne de esta raza.

Los bovinos criollos Rarámuri presentan potencial para ser usados como productores de carne, sin embargo la calidad de su carne aún no ha sido investigada ni tampoco se han aplicado técnicas dirigidas a la mejora de la misma. Se considera que el ultrasonido podría ser una estrategia para dar valor agregado a la carne de criollo Rarámuri. La aplicación del ultrasonido de alta intensidad (UAI) tiene un efecto positivo sobre las propiedades fisicoquímicas de la carne. En particular, el UAI aumenta la ternura al provocar cambios en la estructura muscular y puede mejorar las propiedades tecnológicas de la carne. Este estudio demostró que el ultrasonido ablanda la carne de los músculos *L. dorsi*, *Semitendinosus* o *Triceps brachii*. Por lo tanto, se puede inferir que el ultrasonido podría tener los mismos efectos en cualquier otro músculo de la canal.

Lo que es más importante es que el ultrasonido no provoca cambios negativos en otras características fisicoquímicas relacionadas con la calidad tales como color, el pH, la capacidad de retención de agua y la pérdida por goteo.

El ultrasonido de alta frecuencia enfocado es una estrategia con potencial en la industria cárnica ya que además de que mejora la blandura de la carne presenta la ventaja de concentrar las ondas de ultrasonido en un punto anatómico específico para mejorar los rasgos de calidad y mejorar el valor de las canales de vacuno. Sin embargo, se sugiere investigar más esta tecnología incluyendo los efectos que puede tener en los atributos sensoriales de la carne del ganado Raramuri Criollo ya que la información aún es escasa.

La raza Criollo Rarámuri no es una raza especializada para producción de carne, por lo tanto, los encuentros de esta investigación pueden ayudar a los productores de este ganado tengan otra opción de comercialización mejorando así los ingresos de los habitantes de la región, los cuales en su mayoría son de la etnia tarahumara.