

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**EVALUACIÓN DE DOS SISTEMAS DE ULTRASONIDO DE ALTA INTENSIDAD EN LA
CALIDAD DE *LONGISSIMUS DORSI***

POR:

M. V. Z. BIANKA YHALI CRUZ GARIBALDI

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

ÁREA MAYOR: TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

AGOSTO 2020



Evaluación de dos sistemas de ultrasonido de alta intensidad en la calidad de longissimus doris. Tesis presentada por Bianka Yhalí Cruz Garibaldi como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias, ha sido aprobado y aceptado 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

Dr. Luis Manuel Carrillo López
Presidente

29 Junio 2022

Fecha

Comité:
Ph.D. Iván Adrián García Galicia
Dr. Eduardo Santellano Estrada
Dra. Mariana Huerta Jiménez

AUTOR. BIANKA YHALÍ
CRUZ GARIBALDI
DIRECCIÓN: PERIFÉRICO
FRANCISCO R. ALMADA
KM. 1, CHIHUAHUA, CHIH.,
MÉXICO C.P. 31453

JUNIO 2022

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la fuerza y constancia que me ha obsequiado.

A mi hermano Alexis Yerad O. Garibaldi, a quien amo profundamente y que simultáneamente a mis estudios, está creciendo y desarrollándose con rapidez y que, aunque lo desconozca, es mi gran razón de mejorar como ser humano.

A mi madre, Victoria Garibaldi Díaz, por haber sido mi apoyo y motivación durante la duración de mis estudios.

A mi madre de cariño, Rosalva Montoya Yáñez, por su apoyo incondicional, su cariño y preocupación constante por mi bienestar.

Al Dr. Luis M. Carrillo López, por haber confiado en mí, así como por su orientación y disposición, por compartir sus conocimientos como asesor, así como a mi comité de tesis, la Dra. Mariana Huerta Jimenez, Dr. Iván A García Galicia y al Dr. Eduardo Santellano Estrada, por el apoyo y directriz que me brindaron.

A María de la Luz Arévalo. Maestra, técnico y apoyo incondicional durante mis labores en laboratorio

A CONACYT por el apoyo económico brindado a través de la beca de estudios para posgrado.

A la Universidad Autónoma de Chihuahua por haberme abierto sus puertas y permitirme cursar los estudios de maestría.

A mi compañero Fernando Álvarez Córdova, por todo el apoyo brindado en los malos y buenos momentos que pasamos juntos durante este periodo escolar.

DEDICATORIA

A mi madre Victoria, que me impulsa en todo momento a realizar proyectos de niveles superiores.

A mi madre de cariño, quien siempre me dice lo fuerte y capaz que soy de llevar a cabo mis objetivos, lo que fue un factor vital para mi motivación de alcanzar este logro.

A mi pequeño hermano Alexis de ocho años de edad, a quien extraño y aún cuando no pueda estar con él en esta etapa de su vida, es una gran motivación, para poder ser un ejemplo positivo para él y su futura vida.

A la Facultad de Zootecnia y Ecología que me permitió ser parte de la institución.

A los maestros y compañeros que contribuyeron en alcanzar la meta de ser Maestro en Ciencias en Producción Animal con Área Mayor en Tecnología de Productos de Origen Animal.

CURRICULUM VITAE

El autor nació el 29 de marzo de 1993 en la Cd. Valles, San Luis Potosí, México.

2004 - 2007 Estudios a nivel medio superior en la Preparatoria General
Profesora Gregoria García Barrón.

2011-2016 Estudios de licenciatura en Médico Veterinario Zootecnista,
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, UAAAN UL.

2018-2020 Estudiante de Maestría en Ciencias con Área Mayor en
Tecnología de Productos de Origen Animal. Facultad de
Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua.

RESUMEN GENERAL

EVALUACIÓN DE DOS SISTEMAS DE ULTRASONIDO DE ALTA INTENSIDAD EN LA CALIDAD DE *Longissimus dorsi*

POR:

BIANKA YHALÍ CRUZ GARIBALDI

Maestría en Ciencias en Producción Animal

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Dr. Luis Manuel Carrillo López

En esta investigación se realizaron dos estudios. El primero consistió en la evaluación del rendimiento y la calidad del músculo *Longissimus dorsi* porcino marinado bajo tres sistemas de transferencia de solutos (inmersión y sonda y/o baño asistido por ultrasonido) en dos tamaños de músculo (3 y 5 cm³). El segundo estudio evaluó la calidad del músculo *Longissimus dorsi* bovino por efecto de dos sistemas de aplicación de Ultrasonido de alta intensidad (USAI. Baño y/o sonda) y dos tiempos de tratamiento (25 y 50 min). Adicionalmente, se evaluó la microestructura en la parte expuesta a los emisores de las ondas sónicas y en la parte no expuesta. En el primer estudio, los resultados mostraron una cantidad mayor de sal ($P < 0.0001$) en los controles. Los cubos de 3 cm³ tratados por inmersión y en sistema de sonda 50 % ganaron más peso relativo después de 7

d a 4 °C. El peso fresco y la capacidad de retención de agua (CRA) en los cubos de carne de 3 y 5 cm³ se correlacionaron pobremente con el peso fresco relativo, el cual constituye una medida real de la ganancia en peso y tiene mayor relevancia para la industria. Los cubos con mayor transferencia de sales experimentaron un fenómeno de “deshidratación”, reteniendo menor cantidad de agua. Los cubos de 3 y 5 cm³ en sistema de inmersión presentaron tonos anaranjados debido al largo tiempo del proceso, mientras que el sistema de sonda produjo tonos más rojos y brillosos. El USAI como tecnología asistida al marinado no es eficiente para el control de bacterias mesófilas, psicrófilas ni coliformes. Sin embargo, el aumento significativo en los conteos de BAL puede traer beneficios para la conservación de la carne durante el almacenamiento en refrigeración. En el segundo estudio, los resultados mostraron una disminución significativa del esfuerzo de corte ($P= 0.0109$) y CRA ($P = 0.0109$), en muestras tratadas con USAI (tanto sonda como baño), mientras que la luminosidad ($P = 0.0239$) se incrementó en muestras tratadas en sistema de baño. Las bacterias mesófilas se incrementaron significativamente en muestras tratadas con USAI, independientemente del sistema de aplicación de USAI utilizado ($P = 0.008$), mientras que los conteos de bacterias psicrófilas, coliformes y acidolácticas no se modificaron. El USAI modifica la separación interfibrilar en el músculo, produciendo mayor daño en la superficie del músculo expuesta a los emisores de las ondas sónicas.

ABSTRACT

HIGH INTENSITY ULTRASOUND (HIU) SYSTEMS ON THE QUALITY OF *Longissimus dorsi*

BY:

BIANKA YHALÍ CRUZ GARIBALDI

In this research two studies were performed. The first study evaluates yield and quality of porcine *Longissimus dorsi* marinated using three systems for mass transfer (immersion, probe and bath ultrasound) in two muscle sizes (3 and 5 cm³). The second study evaluated the quality of bovine *Longissimus dorsi* by effect of two high-intensity ultrasound systems (bath or probe) and two times (25 and 50 min). Additionally, the microstructure was evaluated in the part exposed and, in the part, not exposed to the emitters of ultrasound. The 3 cm³ cubes treated by immersion and 50% probe system gained more relative weight after 7 d at 4 °C. The fresh weight and water holding capacity (WHC) in 3 and 5 cm³ cubes were correlated poorly with the relative fresh weight. The cubes with the highest salt transfer showed "dehydration", retaining less water. The 3 and 5 cm³ cubes in immersion system presented orange tones due to the long process time, while the probe system produced redder and brighter tones. HIU as a technology assisted with marinating is not efficient in the control of mesophilic, psychrophilic or coliform bacteria. However, the significant increase in lactic-acid bacteria (LAB) counts may bring benefits for the preservation of meat during refrigerated storage. In the second study, the results showed a significant decrease in shear force (P = 0.0109) and WHC (P = 0.0109), in samples treated using HIU (both probe and bath), while luminosity (P = 0.0239) was increased in samples treated in bath system. Mesophilic bacteria were significantly increased in USAI-treated samples, regardless of the USAI application system used (P = 0.008), while counts of psychrophilic, coliform, and lactic acid bacteria did not modify. HIU modifies the interfibrillar spaces in the muscle, producing greater damage to the surface of the muscle exposed to the emitters of the sonic waves.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN GENERAL.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
LISTA DE CUADROS.....	xvi
LISTA DE GRÁFICAS.....	xvii
LISTA DE FIGURAS.....	xxi
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
LITERATURA CITADA.....	32
ESTUDIO I. TRANSFERENCIA DE MASA, CALIDAD FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA EN CARNE DE CERDO MARINADA CON ULTRASONIDO DE ALTA INTENSIDAD.....	49
RESUMEN.....	40
ABSTRACT.....	42
INTRODUCCIÓN.....	44
MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	81
LITERATURA CITADA.....	82
ESTUDIO II. EFECTO DEL SISTEMA DE APLICACIÓN Y TIEMPO DE ULTRASONIDO EN LA CALIDAD DE LONGISSIMUS DORSI BOVINO.....	86
RESUMEN.....	87
ABSTRACT.....	89
INTRODUCCIÓN.....	90

MATERIALES Y MÉTODOS.....	93
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	100
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	138
LITERATURA CITADA.....	139

LISTA DE CUADROS

1	Espectro de frecuencia acústica (elaboración propia).....	7
2	Estudios recientes del efecto del ultrasonido de alta intensidad en propiedades físico-químicas en músculo <i>Longissimus dorsi</i> bovino (elaboración propia).....	27
3	Medias (\pm D.E.) de los parámetros de color L*a*b* del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C, por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm ³	66
4	Diseño experimental factorial y asignación de tratamientos en 24 cortes de <i>Longissimus dorsi</i> bovino. Factores: sistema ultrasónico y tiempo de tratamiento, en tres y dos niveles, respectivamente.....	95
5	Medias (\pm D.E.) de CIE L*a*b* de cortes de músculo <i>Longgissimus dorsi</i> bovino tratado en dos sistemas ultrasónicos y un control por tiempos de 25 y 50 min.....	102

LISTA DE GRÁFICAS

1	Medias (\pm D.E.) del contenido de cloruro de sodio del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm ³	56
2	Medias (\pm D.E.) del contenido de cloruro de sodio del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm ³	57
3	Medias (\pm D.E.) del peso fresco del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino inmediatamente después del tratamiento y después de 7 d de almacenamiento a 4 °C, por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 cm ³	59
4	Medias (\pm D.E.) del peso fresco del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino inmediatamente después del tratamiento y después de 7 d de almacenamiento a 4 °C, por efecto del sistema de marinado en músculos de 5 cm ³	60
5	Comportamiento del peso fresco (ganancia y/o pérdida) del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino durante el proceso de marinado (pre-trat, post-trat y después de 7 d de almacenamiento a 4 °C) para tamaño del músculo de 3 cm ³ . Pre-trat = antes del marinado; post-trat = después del marinado.....	63
6	Comportamiento del peso fresco (ganancia y/o pérdida) del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino durante el proceso de marinado (pre-trat, post-trat y después de 7 d de almacenamiento a 4 °C) para tamaño del músculo de 5 cm ³ . Pre-trat = antes del marinado; post-trat = después del marinado.....	64
7	Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias mesófilas del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm ³	70
8	Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias psicrófilas del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm ³	73

9	Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias coliformes del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm ³	75
10	Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias acidolácticas del m. <i>Longissimus dorsi</i> porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm ³	79
11	Medias (\pm D.E.) del pH del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.....	104
12	Medias (\pm D.E.) del pH del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.....	105
13	Medias (\pm D.E.) del pH del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.....	106
14	Medias (\pm D.E.) de la capacidad de retención de agua (CRA) del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.....	108
15	Medias (\pm D.E.) de la capacidad de retención de agua (CRA) del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento	109
16	Medias (\pm D.E.) de la capacidad de retención de agua (CRA) del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.....	110
17	Medias (\pm D.E.) del esfuerzo de corte del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.....	112
18	Medias (\pm D.E.) del esfuerzo de corte del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.....	114

19	Medias (\pm D.E.) del esfuerzo de corte del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.....	116
20	Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias mesófilas del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.....	117
21	Medias (\pm D.E.) de los conteos de bacterias mesófilas del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.....	119
22	Medias (\pm D.E.) de los conteros de bacterias mesófilas del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.....	120
23	Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias psicrófilas del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.....	123
24	Medias (\pm D.E.) de los conteos de bacterias psicrófilas del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.....	124
25	Medias (\pm D.E.) de los conteros de bacterias psicrófilas del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.....	125
26	Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias coliformes del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.....	128
27	Medias (\pm D.E.) de los conteos de bacterias coliformes del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.....	129
28	Medias (\pm D.E.) de los conteros de bacterias coliformes del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.....	130

29	Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias ácido lácticas del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.....	133
30	Medias (\pm D.E.) de los conteos de bacterias ácido lácticas del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.....	134
31	Medias (\pm D.E.) de los conteos de bacterias ácido lácticas del m. <i>Longissimus dorsi</i> bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.....	135

LISTA DE FIGURAS

1	Figura 1. Cavitación ultrasónica modificada por Carrillo-Lopez <i>et al.</i> , 2017).....	11
2	Esquema de un sistema de baño ultrasónico (Gonzalez-Gonzalez <i>et al.</i> , 2017).....	14
3	Representación esquemática de los componentes de un sistema ultrasónico de sonda. Las ondas sinusoidales indican la evolución de la amplitud y frecuencia hasta emitir ondas ultrasónicas de alta intensidad (Li <i>et al.</i> , 2019).....	16

INTRODUCCION GENERAL

La alta demanda de carne de bovino es motivada por las características físicoquímicas y sensoriales producidas durante la degustación. Por lo que se necesita de la mejora continua en la producción y en la calidad; las tendencias en el cambio de la alimentación constituye un motivo adicional para esforzarnos en mejorar las cualidades que posee el producto en el mercado. En la actualidad uno de los principales retos en cuanto a salud pública es satisfacer la cantidad adecuada de nutrientes, principalmente proteína, y garantizar la inocuidad que asegure el bienestar del consumidor, por lo que recientemente se han generado técnicas para disminuir la carga microbiana y acelerar el procesamiento de la carne.

El mejoramiento de los procesos en alimentos ha evolucionado con el paso de los años. Una alternativa a los métodos convencionales actuales es el ultrasonido de alta intensidad (USAI), el cual se caracteriza porque constituye una tecnología emergente y aplicada para proveer mejores características a los alimentos, con el potencial de acelerar los procesos sin dañar la calidad (Alarcon-Rojo *et al.*, 2015). Específicamente en carne, algunas ventajas de su uso es la mejora en la calidad e inocuidad, la ternera, los procesos de transferencia de masa y marinado, incluyendo la inactivación de microorganismos (Alarcón-Rojo *et al.*, 2018; Alarcón-Rojo *et al.*, 2019; Caraveo *et al.*, 2014; Diaz-Almanza *et al.*, 2019). Esta tecnología es considerada como una energía acústica, mecánica, no ionizante, no dañina y no contaminante (Alarcón-Rojo *et al.*, 2019). Algunas ventajas son la reducción en los

costos de producción, la reducción en el tiempo de procesamiento y una mínima manipulación por parte del operador (Chemat, Zill-e-Huma y Khan, 2011).

El USAI utiliza ondas de sonido más altas que las que pueden ser detectadas por el oído humano (20 kHz). Cuando el sonido viaja a través de un medio, genera ondas de compresión y rarefacción de las partículas en el medio (Povey y Mason, 1998), resultando la formación de cavidades y/o burbujas que crecen con ciclos posteriores de ultrasonido y que inmediatamente se vuelven inestables y colapsan liberando altas temperaturas y presiones, fenómeno al que se le denomina implosión (Alarcon-Rojo *et al.*, 2018).

El ultrasonido aplicado en carne de bovino ha generado resultados importantes en cuanto a las características de calidad de la carne. La aplicación de ultrasonido en la carne de res aumenta la suavidad y el pH, particularmente durante la maduración, con una mejora adicional en el color y la capacidad de retención de agua de la carne (Caraveo *et al.*, 2014), beneficios por los cuales es una tecnología alternativa, con muchas probabilidades de implementarse en el mercado para asegurar la inocuidad de los alimentos.

Se han realizado estudios sobre la aplicación del ultrasonido para mejorar las cualidades tecnológicas y sensoriales (Alarcón-Rojo *et al.*, 2015), pero con discrepancias en los resultados debido a factores extrínsecos (sistemas ultrasónicos, tiempo, intensidad y frecuencia) e intrínsecos (especie, edad, maduración y tipo de músculo) (Carrillo *et al.*, 2017), los cuales están relacionados con la aplicación. Entre los tipos músculos se presentan variaciones, ya que interviene el tejido conectivo (cantidad y composición) (Latorre, Velázquez y

Purslow, 2018) y la colocación espacial del músculo en la canal bovina, además del tipo de fibra muscular (Ünver, 2016; Purslow, 2005). Con respecto a la textura, se han observado diferencias entre músculos de la canal (Hildrum *et al.*, 2009), cuyos contrastes se atribuyen a variaciones en la longitud del sarcómero y al contenido de colágeno (Wheeler *et al.*, 2000), así como a la magnitud de la actividad proteolítica *post-mórtem* (Ilian *et al.*, 2001).

Las propiedades físicoquímicas de mayor relevancia tecnológica que posee la carne son el color, el pH, la capacidad de retención de agua (CRA) y el esfuerzo de corte. Estas características son los principales determinantes del atractivo visual y sensorial de la carne (Hughes *et al.*, 2014).

Se ha reportado que el tratamiento con USAI preserva las propiedades sensoriales de la carne y reduce significativamente el tiempo de maduración, incluyendo una mejora en la textura (Peña.Gonzalez *et al.*, 2017). El USAI es una alternativa a los procesos invasivos, constituyendo una tecnología emergente que garantiza la calidad. El ultrasonido consiste en energía acústica, mecánica, no ionizante y no contaminante (Alarcon-Rojo *et al.*, 2015; Ünver, 2016; Alarcon-Rojo *et al.*, 2019) que altera las propiedades físicas, químicas y funcionales de los alimentos cuando se aplica a altas intensidades (Terefe, Sikes y Juliano, 2016; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018). También conduce a la alteración física de los tejidos musculares a través de mecanismos relacionados con la cavitación y elevación de presión y temperatura (Leong, Ashokkumar y Velandia, 2011).

A pesar de lo anteriormente expuesto, existe poca información sobre el efecto que tiene el USAI cuando se utilizan diferentes sistemas de aplicación de la

energía sónica. Además, otros factores como el tipo/origen y tamaño del músculo y el tiempo de tratamiento juegan un papel relevante en el efecto producido en la calidad del músculo. Por esto, en esta investigación se realizaron dos estudios; el primero de estos consistió en la evaluación del rendimiento (contenido de sal, capacidad de retención de agua y ganancia/pérdida de peso), color CIE L*a*b* y conteos microbiológicos en el músculo *Longissimus dorsi* porcino marinado bajo tres sistemas de transferencia de solutos (inmersión y sonda y/o baño asistido por ultrasonido) en dos tamaños de músculo (3 y 5 cm³); el segundo estudio evaluó la calidad fisicoquímica, microbiológica y microestructura del músculo *Longissimus dorsi* bovino por efecto de dos sistemas de aplicación de USAI (baño y/o sonda) y dos tiempos de tratamiento (25 y 50 min). Generalmente los estudios se han centrado en el efecto del USAI a nivel superficial, sin evaluar los cambios producidos en la superficie que no se encuentra en contacto con las ondas sónicas. Por esto, en el segundo estudio se evaluó la microestructura en la parte expuesta a los emisores de las ondas sónicas y en la parte no expuesta (el músculo tratado no fue girado durante el tiempo de tratamiento).

REVISIÓN DE LITERATURA

Principio de Ultrasonido

El ultrasonido es una energía de vibración mecánica representada en forma de ondas de sonido que poseen una frecuencia en un rango de 16 kHz y 100 MHz. Las ondas son superiores a las audibles por el oído humano, con frecuencias de 16 Hz a 20 kHz (Jayasooriya *et al.*, 2004; Dolatowski, Stadnik y Stasiak, 2007; Jambrak y Herceg, 2014). La energía del ultrasonido es utilizada en la naturaleza por animales como delfines y murciélagos para localizar presas. Otros animales marinos utilizan pulsos de alta intensidad para aturdir a sus presas (McClements, 1995; Dolatowski, Stadnik y Stasiak, 2007; Awad *et al.*, 2012).

Las ondas ultrasónicas son capaces de alterar las propiedades de un material y poseen propiedades y características como la frecuencia, que es la cantidad de oscilaciones por segundo y es medida en Hertzios (Hz), o bien la potencia del ultrasonido (US), que genera una emisión de onda que a su vez crea burbujas de mayor tamaño en la zona de cavitación. Otras propiedades son la amplitud, definida como la altura de la onda y se mide de pico máximo positivo a pico máximo negativo (pico a pico), y la propagación, que es la dispersión de la onda ultrasónica no lineal en el medio (sólido, líquido y gas). Se derivan propiedades como la velocidad, frecuencia, longitud, intensidad, impedancia y atenuación. Un dato de importancia acerca de la intensidad es que cuando ésta incrementa, aumenta la presión acústica, generando un colapso violento de las burbujas (Carrillo-Lopez *et al.*, 2017).

Otra de las propiedades de las ondas ultrasónicas es la absorción. Esta es el mecanismo que representa la porción de energía de la onda que es convertida en

calor. En el caso de la intensidad, definida como la energía mecánica requerida para mover una masa usando cavitación en un medio líquido, es medida en Watts (W) (Jambrak y Herceg, 2014).

Las ondas ultrasónicas son capaces de modificar la masa, induciendo cambios físicos, químicos y mecánicos gracias a la generación de presión, cizallamiento y temperatura en el medio a través del cual se propagan. El ultrasonido ha sido utilizado eficientemente en la industria alimentaria para mejorar la calidad y tener control de los procesos en alimentos (Carrillo-Lopez *et al.*, 2017).

El principal criterio para determinar la aplicación de ultrasonido es la cantidad de energía que se genera por el campo o sistema. La energía es caracterizada por la potencia del sonido (W), la intensidad del sonido (W/cm^2) y la densidad de la energía del sonido (Ws/cm^3) (Knorr *et al.*, 2004).

Las ondas con un rango menor a 20Hz (20, 000 ciclos por segundo) son conocidas como infrasonido (Cuadro 1) (Jambrak y Herceg, 2014).

Mecanismo de Ultrasonido

El mecanismo de ultrasonido (US) está basado en la conversión de energía eléctrica a energía acústica que genera el ultrasonido, mediante el uso de transductores, donde los más utilizados son a) transductores piezoeléctricos, que son los más comúnmente utilizados, b) transductores conducidos por líquidos y c) transductores de magneto rígido (Robles-Ozuna y Ochoa-Martínez, 2012). Siendo finalmente una forma de energía originada por una onda mecánica cuya

Cuadro 1. Espectro de frecuencia acústica (elaboración propia)

Espectro de frecuencia acústica ¹	
Nombre	Rango (Hz)
Infrasonido	<20
Sonido audible	<20 Hz <AS <20kHz
Ultrasonido	20kHz <US <1GHz
Hipersonido	HS > 1 GHz

¹ El espectro de ultrasonido engloba rangos de frecuencia de entre 20kHz a 1GHz

frecuencia de vibración es mayor a 20, 000 ciclos por segundo (20 kHz), originalmente proveniente de energía eléctrica (Alarcón-Rojo *et al.*, 2019).

Durante el proceso de conversión de energía, se transmite una frecuencia alternante y constante a través de dos electrodos hasta el material ferroeléctrico. Se obtiene la transformación a oscilación mecánica y consiguientemente a la acústica. El sonido generado es transmitido a un amplificador para así ser transmitido al medio en que se encuentra el material a ser tratado (Robles-Ozuna y Ochoa-Martínez, 2012).

La aplicación de US está basada principalmente en tres métodos: a) aplicación directa al producto, b) inmersión en baño ultrasónico y c) emparejado con otro dispositivo (Chemat, Zill-e-Huma y Khan, 2011; Robles-Ozuna y Ochoa-Martínez, 2012; Alarcón-Rojo *et al.*, 2019).

Los efectos causados por el ultrasonido aplicado ya sean físicos, bioquímicos, químicos y/o microbiológicos, permiten la diversidad de su aplicación (Knorr *et al.*, 2004).

La velocidad del ultrasonido en sólidos es superior que en un medio líquido, mientras que la velocidad del sonido en líquidos es mejor que en medio gaseoso (Laugier y Hayat, 2011; Chandrapala, 2015; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018).

Clasificación de Ultrasonido

El ultrasonido (US) se refiere a ondas de sonido que son iguales o superan el rango de frecuencia de 20 kHz, la cual es una frecuencia superior a la audible por el ser humano promedio. El uso de ondas ultrasónicas en alimentos se divide en

dos categorías: a) ultrasonido de baja intensidad o no destructivas (USBI) y b) ultrasonido de alta intensidad (USAI) o destructivas (Dolatowski, Stadnik y Stasiak, 2007; Ercan y Soysal, 2013; Carrillo-Lopez *et al.*, 2017).

El USBI es usado principalmente como una herramienta de análisis, cuya característica principal es que no es destructivo y permite la evaluación y proporción acerca de las propiedades fisicoquímicas y estructurales de los alimentos, como la madurez, firmeza, contenido de azúcar, acidez, etc. (Soria y Villamiel, 2010) o del material a través del cual pasa la onda (Dolatowski, Stadnik y Stasiak, 2007). Dentro de sus usos se encuentran la mejora de la genética de ganado, la estimación de almacenamiento de grasa y músculo, composición corporal y porcentaje de masa intramuscular (Ribeiro *et al.*, 2008; Awad *et al.*, 2012; Jambrak *et al.*, 2014).

El USAI o ultrasonido de potencia es utilizado principalmente para ejercer algún tipo de alteración o modificación física, química, bioquímica, microbiológica o estructural en un alimento (Kang *et al.*, 2017; Diaz-Almanza *et al.*, 2019). El USAI se ha utilizado ampliamente para la disrupción de células, dispersar ingredientes o materiales, inactivación de células, secado, extracción, filtración y para la inducción de reacciones de óxido-reducción (Dolatowski, Stadnik y Stasiak, 2007).

En cuanto a la intensidad y frecuencia en conjunto, se ha establecido una clasificación en tres grupos. El primero de ellos es el ultrasonido de baja intensidad (USBI) y alta frecuencia, que utiliza intensidades inferiores a 1 W/cm^2 y frecuencias de 1 a 10 MHz. El segundo grupo es el ultrasonido de intensidad media (USIM) y frecuencia media, que involucra intensidades de 0.1 a 1 W/cm^2 y un rango de frecuencia de 100 kHz a 1 MHz. Finalmente, el tercer grupo es el ultrasonido de alta

intensidad (USAI) y baja frecuencia, el cual implica intensidades de 10 a 1000 W/cm² y un rango de frecuencia de 10 a 100 kHz (Cuadro 1) (Knorr *et al.*, 2004; Jambrak y Herceg, 2014; Chandrapala, 2015; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018).

Cavitación

El fenómeno de cavitación acústica en un medio líquido es posible por la generación de ondas acústicas en el espectro de ultrasonido en un estado pulsátil y estable (Alarcón-Rojo *et al.*, 2019). El fenómeno de cavitación consiste en el crecimiento e implosión de burbujas de gas-vapor en un medio líquido (Ashokkumar y Mason, 2007; Carrillo-Lopez *et al.*, 2017). A frecuencias de 20 kHz y 1MHz la cavitación ocurre en regiones donde hay ondas de presión de alta amplitud que se alternan velozmente. El ultrasonido se propaga a través de una serie de ondas de compresión y rarefacción (Soria y Villamiel, 2010).

El líquido experimenta ciclos alternos de presión negativa y positiva. Durante el ciclo de presión negativa, el líquido se encuentra sometido a un esfuerzo tensional o rarefacción. Mientras que en el ciclo de presión positiva el líquido experimenta una compresión (Robles-Ozuna y Ochoa-Martínez, 2012; Carrillo-Lopez *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2019). Las burbujas crecen en áreas de baja presión por varios ciclos, hasta alcanzar un punto crítico en el cual no pueden absorber más energía, son inestables y colapsan violentamente al entrar en áreas de alta presión (Figura 1) (Soria y Villamiel, 2010; Kentish y Feng, 2014; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018).

Al condensarse las burbujas, las moléculas del medio líquido chocan violentamente, creando ondas de choque. Estas ondas de choque causadas por la

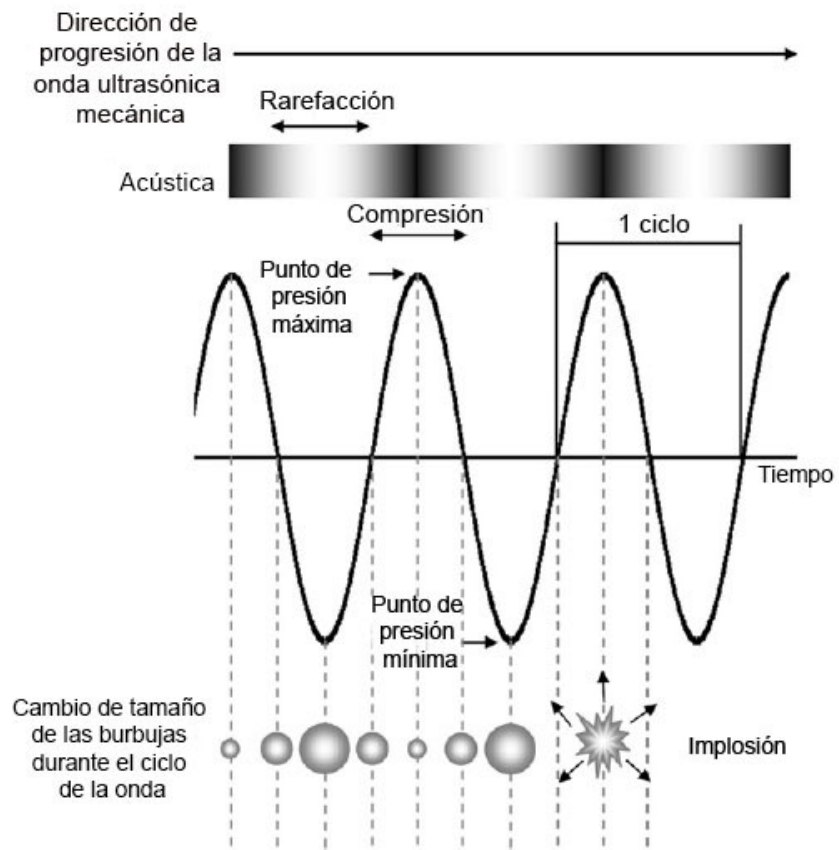


Figura 1. Cavitación ultrasónica (modificada por Carrillo-Lopez *et al.*, 2017).

implosión de las burbujas forman regiones que alcanzan altas temperaturas de 2,000-5000 K y presión de 1000 atm instantáneamente por tiempos breves (Ashokkumar y Mason, 2007; Soria y Villamiel, 2010; Kentish y Feng; 2014).

El tamaño de las burbujas y la energía liberada aumentan conforme aumenta la intensidad del ultrasonido. La cavitación puede provocar microstreaming (micro-transmisión) que puede mejorar la transferencia de calor y transferencia de masa (Dolatowski, Stadnik y Stasiak, 2007; Carrillo-Lopez *et al.*, 2017).

La efectividad del fenómeno de cavitación es fuertemente dependiente de muchos factores como son la frecuencia, la intensidad, la temperatura y la presión de las ondas ultrasónicas transmitidas. También es dependiente de las características del medio tratado como la viscosidad y tensión superficial. Finalmente, otro factor de desempeño es el equipo generador de ultrasonido (Demirdöven y Baysal, 2008; Kentish y Feng, 2014; Carrillo-Lopez *et al.*, 2017; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018). El tamaño de las burbujas está determinado por la frecuencia del ultrasonido (Dolatowski, Stadnik y Stasiak, 2007).

Dado que la energía del sonido es la energía que forman las burbujas, se denomina cavitación acústica (Li *et al.*, 2019). Adicionalmente al fenómeno de cavitación, se generan fenómenos de micro-transmisión, agitación mecánica y fuerzas de corte que alteran las características de los medios (Soria y Villamiel, 2010; Ashokkumar, 2015). Uno de los principales fenómenos que tiene el uso de ultrasonido es la capacidad de ejercer transferencia de masa (Cárcel *et al.*, 2007).

Existen principalmente dos sistemas de la aplicación de ultrasonido en alimentos: el baño ultrasónico y la sonda, que generalmente requiere una fijación de punta llamada sonotrodo (Povey y Mason, 1998; Ercan y Soysal, 2013; Bermúdez-Aguirre, Mobbs y Barbosa-Cánovas, 2011).

Baño Ultrasónico

Consiste en un dispositivo hueco con forma de tanque, cuyo interior de acero inoxidable tiene transductores sujetos a la base. El tanque generalmente contiene una muestra en solución y los transductores irradian ultrasonido directamente hacia la muestra (Figura 2.) (Bermúdez-Aguirre, Mobbs y Barbosa-Cánovas, 2011).

Un baño ultrasónico de baja intensidad utiliza una intensidad de potencia en la cara del transductor piezoeléctrico de entre 1-5 W/cm² a una frecuencia promedio de 40 kHz (Jambrak y Herceg, 2014). Además, los dispositivos de baño ultrasónico tienen menor intensidad de sonido debido al mayor volumen de líquido en el tanque y a la gran área de superficie que emite el ultrasonido (Kentish y Feng, 2014).

Sonda Ultrasónica

Un sistema de ultrasonido por sonda se conforma de un generador que sirve de fuente de alimentación a un transductor piezoeléctrico. El transductor es un convertidor de energía eléctrica de alta frecuencia a energía mecánica vibratoria, llevado a cabo por medio de discos cerámicos piezoeléctricos adjuntos al transductor (Demirdöven y Baysal, 2008; Bermúdez-Aguirre, Mobbs y Barbosa-Cánovas, 2011).

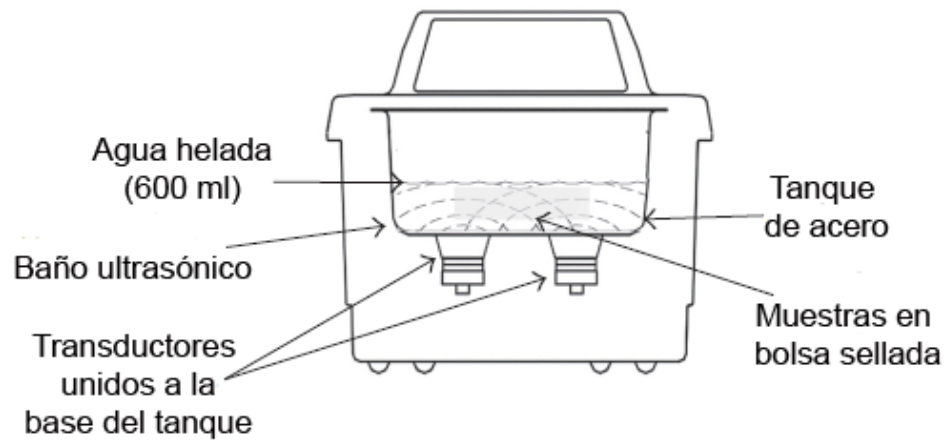


Figura 2. Esquema de un sistema de baño ultrasónico (Gonzalez-Gonzalez *et al.*, 2017).

La bocina y el sonotrodo son componentes utilizados en la etapa de emisión de la onda ultrasónica. La bocina se encarga de amplificar la onda ultrasónica y su forma determina la cantidad de amplificación, mientras que el sonotrodo es el único dispositivo intercambiable del sistema de sonda y se encarga de emitir la onda ultrasónica a la muestra. Se encuentra en la punta de la bocina (Figura 3) (Bermúdez-Aguirre, Mobbs y Barbosa-Cánovas, 2011; Jambrak *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2019).

La forma de la bocina determina la cantidad de amplificación (Ercan y Soysal, 2013; Jambrak *et al.*, 2014). Esta información es necesaria al elegir un emisor para altas producciones en planta, ya que deben elegirse emisores más robustos que no se desgasten con facilidad después de jornadas largas durante la producción de alimentos (Bermúdez-Aguirre, Mobbs y Barbosa-Cánovas, 2011).

Ultrasonido en alimentos

La tecnología e innovación en la manufactura de alimentos son aspectos cruciales para asegurar la calidad de atributos de importancia como el sabor, olor, textura, apariencia visual (color) y valor nutricional (Jambrak y Herceg, 2014).

En la búsqueda de métodos no térmicos que afecten ingredientes termosensibles y propiedades de los alimentos se ha utilizado el ultrasonido de alta intensidad (USAI). El ultrasonido es una tecnología considerada emergente, versátil y con potencial de implementación a escala industrial en la industria alimentaria (Ercan y Soysal, 2013). Ha sido utilizada en el procesamiento de alimentos ecológicos (“Green food

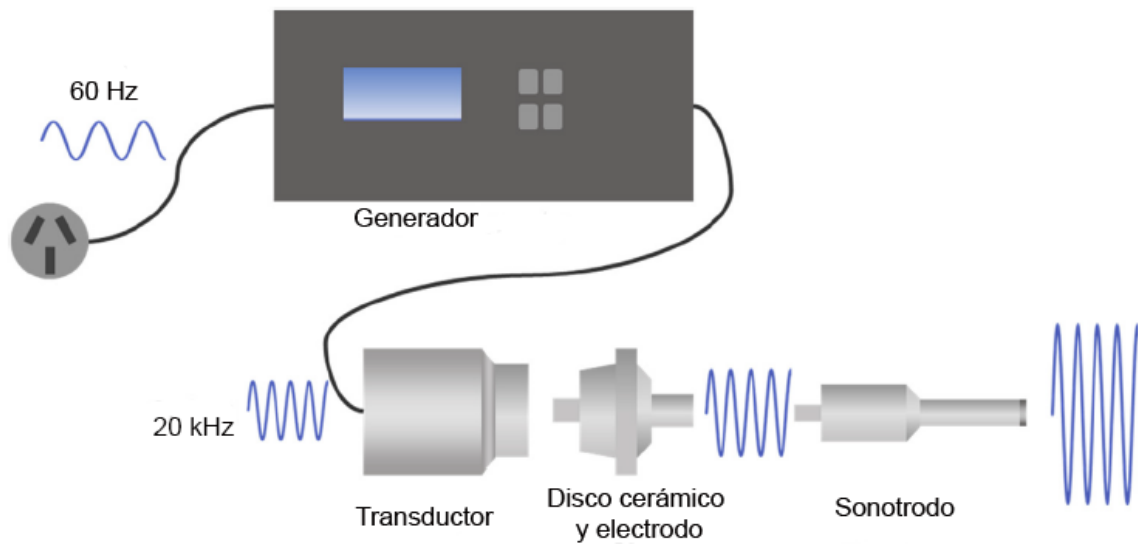


Figura 3. Representación esquemática de los componentes de un sistema ultrasónico de sonda. Las ondas sinusoidales indican la evolución de la amplitud y frecuencia hasta emitir ondas ultrasónicas de alta intensidad (Li *et al.*, 2019).

processing”). Además de ser considerada energía mecánica y acústica no contaminante, no ionizante, y no invasiva (Carrillo-Lopez *et al.*, 2017; Alarcón-Rojo *et al.*, 2018; Alarcón-Rojo *et al.*, 2019).

Utiliza ondas de sonido con frecuencias superiores a las audibles por el oído humano (16 kHz), generando energía (Jayasooriya *et al.*, 2004; Dolatowski, Stadnik y Stasiak, 2007; Jambrak y Herceg, 2014; Alarcón-Rojo *et al.*, 2015).

El uso y aplicación de US en alimentos ha sido utilizado en el procesado, preservación y modificación de moléculas de los alimentos (Jambrak *et al.*, 2014). Su uso se basa en los beneficios al reducir tiempos, tanto de producción y aceleración de procesos, mejorando cualidades y calidad sin dañar a los alimentos en comparación con procesos tradicionales como el tratamiento térmico, pasteurización, inmersión, esterilización y altas presiones. Además, es también considerada una tecnología limpia (Chemat, Zill-e-Huma y Khan, 2011; Ashokkumar, 2015; Robles-Ozuna y Ochoa-Martínez, 2012; Alarcón-Rojo *et al.*, 2019).

Tiene aplicaciones en diversos procesos alimentarios en los que se incluye a la extracción, la inducción, la promoción de reacciones de óxido-reducción, la cristalización, la limpieza de superficies, estructuras, reducción de partículas para la homogeneización y emulsión de aceites (Leong, Ashokkumar y Kentish, 2011), emulsión de productos lácteos y cárnicos como lo son las mantequillas, cremas de ensaladas, helados, jamones, salchichas, salami, etc. (Krasulya *et al.*, 2016; Paniwnyk, 2017).

Otras aplicaciones del ultrasonido en alimentos son procesos de pasteurización o preservación de alimentos para la inactivación de enzimas que destruyen nutrientes en los alimentos y eliminación de microorganismos (Dolatowski, Stadnik y Stasiak, 2007; Ercan y Soysal, 2013; Jambrak y Herceg, 2014).

Propiedades de la Calidad de la Carne

La carne es un producto de origen animal de consumo universal. Este hecho exige a la industria del procesamiento de la carne asegurar los tres principales componentes de la calidad de la carne: 1) el valor nutricional del alimento, 2) la seguridad e inocuidad y 3) la aceptabilidad por parte del consumidor (Bekhit y Faustman, 2005). Estos componentes involucran las características organolépticas, físicoquímicas, estructurales y microbiológicas que permiten la aceptabilidad del consumidor (Alarcon-Rojo *et al.*, 2019).

La calidad de la carne fresca es un término ambiguo ya que es determinado por las preferencias del consumidor. Para determinar una buena o mala calidad se toman en cuenta factores intrínsecos y extrínsecos de la composición de la carne (Bekhit y Faustman, 2005; Joo *et al.*, 1995).

La composición de la carne se establece durante la vida de un animal. Sin embargo, esta composición se ve fuertemente implicada por factores tanto *ante-mórtem* como *post-mórtem* (Onega, 2003).

La evaluación de la calidad de la carne implica la consideración de diversos factores de manejo. Se toman en cuenta factores zootécnicos y de producción

animal. Además, se consideran factores intrínsecos (edad, sexo, raza, etc.) y extrínsecos (alimentación, transporte, manejo, sacrificio, cadena de frío, condiciones sanitarias, etc.) y el proceso de conversión de músculo a carne. Todo lo anterior puede comprometer la calidad de la carne (Onega, 2003; Ramírez, 2007; Guerrero *et al.*, 2013).

Para la evaluación de la calidad de la carne se toman en cuenta las cualidades organolépticas, fisicoquímicas, microbiológicas y estructurales de una muestra. Los atributos organolépticos son características cualitativas evaluadas por los sentidos del consumidor para la aceptabilidad de un producto cárnico (Sánchez y Albarracín, 2010). Estas características son el color, la jugosidad, el sabor, la textura y la ternura, las cuales están influenciadas por la capacidad de retención de agua (CRA) (Alarcon-Rojo *et al.*, 2015). Mientras que las características fisicoquímicas de mayor impacto en la industria son el pH, CRA, color y ternura. Estas características pueden ser medidas a través de equipo específico (Got *et al.*, 1999; Pearce *et al.*, 2011; Alarcon-Rojo *et al.*, 2019).

pH

El pH es uno de los indicadores más importantes de la calidad de la carne. Afecta directamente la estabilidad y propiedades de las proteínas. Se define como el logaritmo negativo de la concentración de protones. Posee una escala de medición de rango 0-14 (León, Orluz y Velandia, 2017).

El pH de los animales vivos se sitúa en un rango de pH 7.0-7.40. Tras el sacrificio del animal existe un descenso hasta valores de 5.4-5.8, normalmente (Onega, 2003; Pearce *et al.*, 2011; León, Orluz y Velandia, 2017).

Durante el proceso de conversión de músculo a carne se producen cambios que modifican el pH. Estos cambios son: a) el agotamiento gradual de la energía disponible (glucógeno), b) el cambio de metabolismo aeróbico a anaeróbico, lo que favorece la producción de ácido láctico, provocando el descenso de pH a un rango cercano a la neutralidad (pH 5.4-5.8), y c) el aumento de la fuerza iónica, causada por la incapacidad de acción de las bombas de calcio, sodio y potasio dependientes de ATP (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005; Motter *et al.*, 2009; Huff Lonergan, Zhang y Lonergan, 2010).

Debido a la escasez de ATP, los complejos actomiosina formados son permanentes. La contracción de las fibras musculares reduce el espacio para que el agua pueda mantenerse entre los miofilamentos (Pearce *et al.*, 2011). El proceso de conversión de músculo a carne ocurre en un tiempo de entre 15-36 hrs *post-mórtem*. El descenso de pH en conjunto con una temperatura de almacenamiento de 4 °C a 6 °C favorece la acción de las calpaínas. Las calpaínas son las enzimas proteolíticas primarias del músculo que generan una mayor ternura (Motter *et al.*, 2009). El pH tiene un efecto definitivo sobre la CRA. En carne fresca la CRA depende de la degradación del glucógeno causada por las condiciones *ante-mórtem* y *post-mórtem* (Guerrero, Ponce y Pérez, 2002; Huges *et al.*, 2014). Existen defectos indeseables de la carne correlacionados con el pH denominados como carne oscura, firme y seca (DFD) (Viljoen, Kock y Webb, 2002) y pálida, suave y exudativa (PSE).

Cuando un animal ha sido estresado previo al sacrificio hay agotamiento de glucógeno y el pH final en carne es superior a 6.0 y las proteínas retienen

fuertemente al agua. Sin embargo, aunque el sistema posee agua, ésta se encuentra químicamente unida al músculo, dando una apariencia opaca y de sequedad, características de DFD (Guerrero, Ponce y Pérez, 2002).

Capacidad de Retención de agua (CRA)

La CRA se define como la capacidad que poseen las proteínas de la carne para retener e inmovilizar el agua propia o añadida durante la aplicación de fuerzas externas, como pudieran ser el corte, prensado o trituración (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005; Guerrero, Ponce y Pérez, 2002; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018). De la CRA dependen otros parámetros como textura, color, terneza y jugosidad. Cabe mencionar que la jugosidad es el único parámetro subjetivo de la carne y es evaluado en el análisis sensorial por consumidores (Pearce *et al.*, 2011; Warner, 2017). Otro factor analizado de la misma manera es la terneza de la carne, considerado como el atributo más importante y apreciado por los consumidores. Es una característica afectada por múltiples factores, tanto extrínsecos como intrínsecos, como pueden ser el sexo, la edad del animal, la alimentación y el manejo, etc. (Motter *et al.*, 2009).

La tasa de caída de pH, asociada a la glicolisis anaeróbica muscular post-*mórtem*, es el factor más importante para determinar la CRA de la carne (Warner, 2017). Una caída rápida de pH reduce la CRA de la carne debido a la formación del complejo actomiosina de forma permanente, acortando las fibras musculares y reduciendo el espacio para que el agua pueda mantenerse entre fibras (Pearce *et al.*, 2011; Alarcón-Rojo *et al.*, 2018). Mientras que un descenso de pH relativamente tardío aumenta la CRA, debido a las cargas eléctricas dentro de las proteínas

musculares que se producen cuando el pH está por encima del punto isoeléctrico (pH 5.3-5.3) (Alarcón-Rojo *et al.*, 2018).

La importancia de la CRA es particularmente importante en productos cárnicos picados o molidos. En este tipo de producto se ha perdido la integridad de la fibra muscular, por lo que no existe una retención física del agua libre (Guerrero, Ponce y Pérez, 2002).

Dentro de la CRA se toman en cuenta las pérdidas de agua por goteo (drip loss), que es el agua que exuda la carne por gravedad sin la aplicación de una fuerza, la pérdida por descongelación (thawing loss), que es el agua liberada al temperar la carne sin fuerzas externas y las pérdidas por cocción (cooking loss), que es el agua liberada al calentar la muestra (Onega, 2003).

Color

El color es la primer característica observada y tomada como factor clave de aceptación considerada por un consumidor. Un color rojo brillante en carne fresca está relacionado con una mayor frescura, jugosidad y por lo tanto una mayor aceptación (Onega, 2003; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018; Alarcon-Rojo *et al.*, 2019).

El color se define como la sensación resultante al estimular la retina a través de ondas luminosas. Se encuentra determinado principalmente por la cantidad de mioglobina y la configuración de la misma. La mioglobina es una proteína hemo globular intracelular que se encuentra en el músculo esquelético y cardiaco que provee el pigmento muscular (Bekhit y Faustman, 2005; Ramírez, 2007; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018). El color posee características propias como son a) el tono, que

se define como el estado químico de la mioglobina, b) la saturación, que se refiere a la cantidad de mioglobina presente en el músculo y c) la luminosidad, que es el estado físico de la superficie de la carne en una escala que se extiende desde el negro absoluto hasta el blanco absoluto (Warris, Brown y Adams, 1990; Onega, 2003).

En 1931, la Comisión Internacional de l'Éclairage (CIE), desarrolló los valores de triestímulo en ejes tridimensionales XYZ y en 1976, el espacio de color en CIE L*, a*, b* (CIELAB) para evaluar este parámetro. El eje a* se extiende de verde (-a) a rojo (+a), el eje b* de azul (-b) a amarillo (+b) y L* de negro absoluto a blanco absoluto (Onega, 2003; AMSA, 2012).

En carne, la coordenada L* se considera como la capacidad de reflexión de la luz desde la superficie del tejido. Un incremento en esta variable hace referencia a que se refleja mayor cantidad de luz y se asocia comúnmente a un aumento de agua libre en la superficie de la carne (Warris, 2010; Diaz-Almanza *et al.*, 2019).

Textura

La textura es un parámetro influenciado por el tamaño de los haces de fibras dispuestas longitudinalmente en los músculos y por la cantidad de tejido perimúsico que rodea cada haz de fibras musculares. La textura incluye los términos dureza y ternura de la carne (Amerling, 2003; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018; Gonzalez-Gonzalez *et al.*, 2020). La ternura de la carne es uno de los atributos sensoriales de mayor importancia para los consumidores (Huff Lonergan, Zhang y Lonergan, 2010; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018).

Para evaluar la dureza o terneza de una carne cruda por parte de un panel sensorial, se toma en cuenta la facilidad de los dientes para romper las fibras, la facilidad con que la carne se fragmenta y el residuo post-masticación (Amerling, 2003).

Además, la terneza es afectada por la organización estructural (tejido conectivo y proteínas miofibrilares), la composición y la integridad del músculo esquelético (Alarcon-Rojo *et al.*, 2018). Por consiguiente, para medir el grado de dureza o terneza de la carne, se toman en cuenta tres tipos de proteínas: a) del tejido conectivo principalmente el colágeno y el sistema proteolítico de calpaínas, b) de las miofibrillas, tanto intermiofibrilares (desmina y vinculina) como intramiofibrilares (titina y nebulina) y c) del sarcoplasma a la distrofina (Amerling, 2003; Pearce *et al.*, 2011; Gonzalez-Gonzalez *et al.*, 2020).

Debido a que la función de la mayoría de las proteínas mencionadas es la de mantener una integridad estructural de las miofibrillas, al comenzar una proteólisis y debilitarlas se produce una tenderización de la carne (Pearce *et al.*, 2011).

Otros factores que pueden afectar su dureza o terneza son la duración del *rigor mortis* y la aparición de la maduración. Cabe mencionar que la terneza como atributo varía entre los diferentes músculos (Amerling, 2003; Hildrum *et al.*, 2009; Gonzalez-Gonzalez *et al.*, 2020).

Ultrasonido de Alta Intensidad (USAI) en el procesado de la carne

Los antecedentes del uso de ultrasonido de alta intensidad en carne son amplios. Los beneficios incluyen las mejoras de productos cárnicos para elevar su

grado de calidad. En el procesado de carne las aplicaciones del USAI se han enfocado en procesos de curado, marinado y limpieza y esterilización de equipo (Wang *et al.*, 2018).

USAI en la tenderización de la carne

La terneza de la carne es el atributo de textura mas importante percibido por el consumidor (Barekat y Soltanizaeh, 2017; Garcia-Galicia *et al.*, 2019). A causa de la importancia de este atributo para los consumidores y a la deficiente estandarización de la terneza en carne fresca, se ha considerado uno de los principales problemas que enfrenta la industria cárnica (Jayasooriya *et al.*, 2007; Nowak, 2011; Barekat y Soltanizadeh, 2018).

Con el objetivo de aumentar la terneza se han aplicado métodos como estimulación eléctrica, presurización, infusión en calcio, marinado, tratamiento enzimático exógeno y maduración. Aunque son métodos funcionales, también son invasivos, ya que afectan la apariencia de la carne o requieren de mucho tiempo de tratamiento. Por ejemplo, el madurado es un método tradicional para aumentar la terneza de la carne. Aunque se obtienen buenos resultados en la disminución de esfuerzo de corte, es un método muy tardado. El USAI constituye una alternativa a los métodos tradicionales anteriormente mencionados; en el caso del marinado, el USAI constituye una tecnología acompañante al marinado tradicional por inmersión (Jayasooriya *et al.*, 2007; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018).

Además, la terneza es afectada por la organización estructural (tejido conectivo y proteínas miofibrilares), la composición y la integridad del músculo

esquelético, especialmente del colágeno (Barekat y Soltanizadeh, 2017; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018).

El efecto que ejerce USAI en la textura de la carne es dependiente de la especie, el tipo de músculo, sean oxidativos o glucolíticos, y de las condiciones de ultrasonido como son la intensidad, frecuencia, sistema ultrasónico, etc. (Terefe, Sikes y Juliano, 2016).

Debido a que los experimentos hasta la fecha realizados son muy variables en las condiciones de ultrasonido, y por lo tanto no comparables, los resultados son de difícil interpretación (Terefe, Sikes y Juliano, 2016). Sin embargo, los principales efectos positivos del USAI en la textura, que se sugieren respecto a experimentos realizados post *rigor-mortis*, implican a) una disrupción mecánica del tejido y proteínas causado por la cavitación (Jayasooriya *et al.*, 2004), b) fragmentación de macromoléculas de colágeno y c) una liberación y activación de enzimas proteolíticas estimuladas por el USAI (Terefe, Sikes y Juliano, 2016; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018).

Cuando la carne es expuesta a USAI y es almacenada, se genera un aumento en la proteólisis, particularmente por desmina y troponina-T, acelerando la etapa de *rigor mortis* y pasando a la etapa de ablandamiento prontamente (Wang *et al.*, 2018; Alarcon-Rojo *et al.*, 2018; Gonzalez-Gonzalez *et al.*, 2020).

En años recientes muchos estudios han reportado el efecto de US en la calidad fisicoquímica de la carne fresca de res (Cuadro 2) (Alarcon-Rojo *et al.*, 2015).

Cuadro 2. Estudios recientes del efecto del ultrasonido de alta intensidad en propiedades físico-químicas en músculo *Longissimus dorsi* bovino (elaboración propia)

Referencia	Parámetros de ultrasonido (intensidad, frecuencia y tiempo)	Descripción de muestra y condiciones adicionales	Resultados en características físicoquímicas
Kang <i>et al.</i> , 2016a	2.39, 6.23, 11.32 y 20.96 W/cm ² 20 kHz; 30, 60, 90 y 120 min Sonda ultrasónica	<i>L. dorsi</i> bovino; 48 hrs post- <i>mórtem</i> ; 6% NaCl	Aumento significativo de oxidación de lípidos, hidrofobicidad de proteínas y oxidación proteica
Kang <i>et al.</i> , 2016b	2.39, 6.23, 11.32 y 20.96 W/cm ² 20 kHz; 30, 60, 90 y 120 min	<i>L. dorsi</i> bovino; 48 hrs post- <i>mórtem</i> ; 6% NaCl	Incremento en la separación de miofibrillas, ruptura de miofibrillas a lo largo de líneas Z a 27.82 W/cm ² y 120 min, incremento en el coeficiente de difusión

Referencia	Parámetros de ultrasonido (intensidad, frecuencia y tiempo)	Descripción de muestra y condiciones adicionales	Resultados en características físicoquímicas
Peña- Gonzalez <i>et al.</i> , 2017	11 W/cm ² ; 40 kHz; 60 min. Baño ultrasónico	<i>L. dorsi</i> bovino; 0, 7 y 14 d post USAI	Disminución significativa en el esfuerzo al corte, aumento de la jugosidad y terneza sensorial, aumento en la oxidación lipídica a los 14 d de maduración
Kang <i>et</i> <i>al.</i> , 2017	150 y 300 W; 20 kHz; 30 y 120 min. Inmersión en salmuera durante tratamiento	<i>L. dorsi</i> bovino 48 h post- <i>mórtem</i> ; 50x50x10 mm, empaquete al vacío.	Incremento en la terneza y en proteólisis (desmina y troponina- T), aumento en el índice de fragmentación miofibrilar.
González- González <i>et al.</i> , 2017	11 W/cm ² ; 40 kHz; 20, 40 y 60 min	<i>L. dorsi</i> bovino	Mayor homogeneidad de solutos en el músculo

Referencia	Parámetros de ultrasonido (intensidad, frecuencia y tiempo)	Descripción de muestra y condiciones adicionales	Resultados en características físicoquímicas
		24 hrs <i>post-mórtem</i> ; 2 x 2 x 2.5 cm (20 g); 0 y 7 días post USAI.	sin cambio en propiedades sensoriales
Siró <i>et al.</i> , 2009	2.0, 2.5, 3.0, 3.5 y 4.0 W/cm ² ; 20 kHz; 30, 90 y 180 min.	<i>L. dorsi</i> porcino; 50 x 50 x 30 mm; NaCl 40 g/L.	Altas intensidades y tiempos causaron desnaturalización proteica, mayor difusión de NaCl e incremento en la CRA

Ultrasonido de Alta Intensidad (USAI) en Calidad Microbiológica de la Carne

La seguridad alimentaria es de gran importancia en la industria de la carne. La contaminación de la carne puede generar cambios indeseables causando pérdidas económicas o problemas de salud al consumidor en caso de consumo (Diaz-Almanza *et al.*, 2018).

Cuando el USAI es aplicado a una intensidad y frecuencia suficiente (>1 W/cm², 20-500 kHz), el ultrasonido tiene el potencial de causar la muerte celular (Earnshaw, Appleyard y Hurst, 1995; Kang *et al.*, 2017; Carrillo-Lopez *et al.*, 2019). El modo de acción sobre la inactivación o eliminación de microorganismos se basa en el fenómeno de cavitación, producido cuando una onda ultrasónica (superior a 16 Hz a 20 kHz) (Jayasooriya *et al.*, 2004; Dolatowski, Stadnik y Stasiak, 2007; Jambrak y Herceg, 2014) pasa a través de un medio líquido; se producen regiones de presión y expansión. En estas regiones comienza el fenómeno de cavitación.

Las burbujas se crean y en algún punto de su expansión, temperaturas localizadas altas (5,000 °C) y presiones altas generan su implosión violenta. Esta implosión elimina algunas bacterias, a través del daño, ruptura y adelgazamiento en la pared celular y estructuras (Knorr *et al.*, 2004; Bermúdez-Aguirre, Mobbs y Barbosa-Cánovas, 2011).

En las bacterias que existe rompimiento de la pared celular, el contenido es liberado desde el citoplasma. Por esto, algunas bacterias son más resistentes que otras (Earnshaw, Appleyard y Hurst, 1995). Los efectos de la inactivación microbiana se le atribuyen a la temperatura y producción y liberación de radicales

libres durante la aplicación de USAI, en donde se ha evidenciado una separación entre la membrana citoplasmática y la pared celular de las bacterias (Bermúdez-Aguirre, Mobbs y Barbosa-Cánovas, 2011).

Sin embargo, estas aplicaciones han sido en combinación con tratamientos de presión, calor o antimicrobianos. A pesar de que el USAI a frecuencias superiores de 18 kHz puede eliminar microorganismos, en ocasiones no es suficiente para reducir la carga microbiana. Las frecuencias más comunes de aplicación son 20 y 24 kHz (Knorr *et al.*, 2004; Bermúdez-Aguirre, Mobbs y Barbosa-Cánovas, 2011). Por lo tanto, la aplicación de USAI en conjunto con otro tratamiento es la mejor opción para la reducción y eliminación de microorganismos presentes en la carne (Rodríguez *et al.*, 2003; Raso y Barbosa-Cánovas, 2003; Bermúdez-Aguirre, Mobbs y Barbosa-Cánovas, 2011).

LITERATURA CITADA

- Alarcon-Rojo, A. D., E. Peña-González, I. García-Galicia, L. Carrillo-López, M. Huerta-Jiménez, R. Reyes-Villagrana y H. Janacua-Vidales. 2018. Ultrasound Application to Improve Meat Quality. En Descriptive Food Science. A. Valero y R. M. García-Gimeno, eds. Intech Open. London, UK.
- Alarcon-Rojo, A. D., L. M. Carrillo-Lopez, R. Reyes-Villagrana, M. Huerta-Jimenez, I. A. Garcia-Galicia. 2019. Ultrasound and meat quality: A review. *Ultrason. Sonochem.* 55: 369–382.
- Alarcon-Rojo, A.D., H. Janacua, J.C. Rodriguez, L. Paniwnyk, T.J. Mason. 2015. Power ultrasound in meat processing. *Meat Sci.* 107: 86–93.
- American Meat Science Association (AMSA). 2012. Meat Color Measurement Guidelines. Champaign, Illinois USA.
- Amerling, C. 2003. Tecnología de la carne: Antología. EUNED. Costa Rica.
- Ashokkumar, M. 2015. Applications of ultrasound in food and bioprocessing. *Ultrason. Sonochem.* 25: 17-23.
- Ashokkumar, M., y T. J. Mason. 2007. Sonochemistry. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. NY Wiley. New York, USA.
- Awad, T. S., H. A. Moharram, O.E. Shaltout, D. Asker, M.M. Youssef. 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Res. Int.* 48: 410-427.
- Barekat, S y N. Soltanizadeh. 2017. Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 39: 223-229.
- Barekat, S. y N. Soltanizadeh. 2018. Effects of Ultrasound on Microstructure and Enzyme Penetration in Beef *Longissimus lumborum* Muscle. *Food Bioproc. Tech.* 11: 680–693.
- Bekhit, A. E. D. y C. Faustman. 2005. Metmyoglobin reducing activity. *Meat Sci.* 71: 407-439.
- Bermúdez-Aguirre D., T. Mobbs y G. V. Barbosa-Cánovas. 2011. Ultrasound applications in food processing. En *Ultrasound technologies for food and bioprocessing*. H. Feng *et al.* eds Springer, New York, USA.

- Caraveo, O., A. D. Alarcon-Rojo, A. Renteria, E. Santellano y L. Paniwnyk. 2014. Physicochemical and microbiological characteristics of beef treated with high-intensity ultrasound and stored at 4 °C. *J Sci Food Agric.* 95: 2487–2493.
- Cárcel, J.A., J. Benedito, J. Bon, A. Mulet. 2007. High intensity ultrasound effects on meat brining. *Meat Sci.* 76: 611-619.
- Carrillo-López, L. M., A. D. Alarcón-Rojo, L. Luna-Rodríguez y R. Reyes-Villagrana. 2017. Modification of Food Systems by Ultrasound. *J. Food Qual.* 2017: 1-12.
- Carrillo-Lopez, L. M., M. Huerta-Jimenez, I. A. Garcia-Galicia, A. D. Alarcon-Rojo. 2019. Bacterial control and structural and physicochemical modification of bovine *Longissimus dorsi* by ultrasound. *Ultrason. Sonochem.* 58: 104608.
- Chandrapala, J. 2015. Low intensity ultrasound applications on food systems. *Int. Food Res. J.* 22: 888-895.
- Chemat, F., Zill-e-Huma, M. K. Khan. 2011. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrason. Sonochem.* 18: 813–835.
- Demirdöven, A. y T. Baysal. 2008. The Use of Ultrasound and Combined Technologies in Food Preservation. *Food Rev. Int.* 25: 1-11.
- Diaz-Almanza, S., R. Reyes-Villagrana, A. D. Alarcon-Rojo, M. Huerta-Jimenez, L. M. Carrillo-Lopez, C. Estep, J. Urbina-Perez, I. A. Garcia-Galicia. 2019. Time matters when ultrasonicing beef: The best time for tenderness is not the best for reducing microbial counts. *J. Food Process. Eng.* 42: e13210.
- Dolatowski, Z. J., J. Stadnik y D. Stasiak. 2007. Applications of Ultrasound in Food Technology. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 6: 89-99.
- Ercan, S. S. y C. Soysal. 2013. Use of ultrasound in food preservation. *Nat. Sci.* 05: 5–13.
- Earnshaw, R. G., Appleyard, J., and Hurst, R. M. (1995). Understanding physical inactivation processes: combined preservation opportunities using heat, ultrasound and pressure. *Int. J. Food Microbiology.* 28: 197–219.
- Garcia-Galicia, I. A., M. Huerta-Jimenez, C. Morales-Piñon, S. Diaz-Almanza, L. M. Carrillo-Lopez, R. Reyes-Villagrana, C. Estep, A. D. Alarcon-Rojo. 2019. *J Food Process Eng.* 2019;e13044.
- 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.

- 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.* 2017 (2017).
- 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.
- Guerrero, A., M. Velandia, M. M. Campo y C. Sañudo. 2013. Some factors that affect ruminant meat quality: from the farm to the fork. Review. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 35: 335-347.
- Guerrero, L. I., E. Ponce y M. L. Pérez. 2002. Curso práctico de tecnología de carnes y pescado. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. México, DF.
- Hildrum, K. I., R. Rødbotten, M. Høy, J. Berg, B. Narum, J. P. Wold. 2009. Classification of different bovine muscles according to sensory characteristics and Warner Bratzler shear force. *Meat Sci.* 83: 302-307.
- Huff Lonergan, E. H., W. Zhang y S. M. Lonergan. 2010. Biochemistry of postmortem muscle—Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Sci.* 86: 184-195.
- 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.
- Hughes, J., S. Oiseth, P. Purslow, R.D. y Warner. 2014. A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness. *Meat Sci.* 98: 520-532.
- Ilian M.A., J.D. Morton, M.P. Kent, C.E. Le Couteur, J. Hickford, R. Cowley, R. Bickerstaffe. 2001. Intermuscular variation in tenderness: Association with the ubiquitous and muscle-specific calpains. *J. Anim. Sci.* 79: 122–132.
- Jambrak, A. R. y Z. Herceg. 2014. Application of Ultrasonics in Food Preservation and Processing. En *Conventional and Advanced Food Processing Technologies*. First Edition. Suvendu Bhattacharya, eds. Croacia
- Jambrak, A. R., T. J. Mason, V. Lelas, L. Paniwnyk y Z. Herceg. 2014. Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins. *J. Food Eng.* 121: 15–23.

- 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.
- Jayasooriya, S.D., B.R. Bhandari, P. Torley, B.R. D'Arcy. 2004. Effect of high power Ultrasound waves on properties of meat: a review. *Int. J. Food Prop.* 7: 301-319.
- Joo, S. T., R. G. Kauffman, B. C. Kim, y C. J. Kim. 1995. The relationship between color and water-holding capacity in post-rigor porcine longissimus muscle. *Journal of Muscle Foods.* 6: 211–226.
- Kang D., X. Gao, Q. Ge, G. Zhou, 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.
- Kang, D., Y. Zou, Y. Cheng, L. Xing, G. Zhou, W. Zhang. 2016a. Effects of power ultrasound on oxidation and structure of beef proteins during curing processing. *Ultrason. Sonochem.* 33: 47-53.
- Kang, D., A. Wang, G. Zhou, W. Zhang, S. Xu y G. Guo. 2016b. Power ultrasonic on mass transporto f beef: Effect of ultrasound intensity and NaCl concentration. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.* 35: 36-44. B
- Kang, D., X. Gao, Q. Ge, G. Zhou, 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
- Kentish, S. y H. Feng. 2014. Applications of Power Ultrasound in Food Processing. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 5: 263–284.
- Knorr D., M. Zenker, V. Heinz, y D.-U. Lee. 2004. Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends Food Sci. Techn.* 15, 261-266.
- Krasulya O., V. Bogush, V. Trishina, I. Potoroko, S. Khmelev, P. Sivashanmugam y S. Anandan. 2016. Impact of acoustic cavitation on food emulsions. *Ultrason. Sonochem.* 30: 98–102
- Latorre, M. E., D. E. Velázquez, P. P. Purslow. 2018. Differences in the Energetics of Collagen Denaturation in Connective Tissue From Two Muscles. *J. Biol. Macromol.* 113: 1294-1301.
- Laugier, P. y G. Hayat, 2011. Introduction to the physics of ultrasound. En *Bone Quantitative Ultrasound*. P Laugier Y G. Hayat eds. Springer, New York.

- León, M, A. Orduz y M. Velandia. 2017. Composición Fisicoquímica de la Carne de Ovejo, Pollo, Res y Cerdo. @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria. 15: 62-75.
- Leong, T., M. Ashokkumar y S. Kentish. 2011. The Fundamentals of Power Ultrasound – A Review. *Acoustics Australia* 39: 2-45.
- Li, W., C. J. Gamlath, R. Pathak, G. J. Martin y M. Ashokkumar. 2019. Ultrasound–The Physical and Chemical Effects Integral to Food Processing. Module in Food Sciences En: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22679-6>. Consultado 14 Mayo 2020.
- McClements, D. J. 1995. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends Food Sci. Technol.* 6: 293-299.
- Motter, M. M., P. Corvai, M. Krause, M. Perez y L. Soria. 2009. Rol de la calpastatina en la variabilidad de la terneza de la carne bovina. *BAG. Journal of basic and applied genetics.* 20: 15-24.
- Nowak D. 2011. Enzymes in Tenderization of Meat – The System of Calpains and Other Systems – a Review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 61: 231-237.
- Onega, M. E. 2003. Evaluación de la Calidad de Carnes Frescas: Aplicación de Técnicas Analíticas, Instrumentales y Sensoriales. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.
- Paniwnyk, L. 2017. Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review. *Ultrason. Sonochem.* 38: 794-806.
- Pearce, K. L., K. Rosenvold, H. J. Andersen y D. L. Hopkins. 2011. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes — A review. *Meat Sci.* 89: 111–124.
- Peña-González, E.M., A.D. Alarcón-Rojo, A. Rentería, I. García, E. Santellano, A. Quintero y L. Luna. 2017. Quality and Sensory Profile of Ultrasound-Treated Beef. *Ital. J. Food Sci.* 29: 2017: 463-475.
- Povey, M. y T. Mason. 1998. *Ultrasound in food processing.* London, Blackie Academic and Professional. J.W. Povey y T. Mason eds. Weinheim, London.
- Purslow, P. P. 2005. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Sci.* 70: 435–447.

- Ramírez, F. 2007. Manual del ingeniero de los alimentos. 2a Ed. Editorial Grupo Latino. Bogotá, Colombia.
- Raso, J. y G. V. Barbosa-Cánovas. 2003. Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 43: 265–285.
- Ribeiro, F. R. B., L. O. Tedeschi, J. R. Stouffer y G. E. Carstens. 2008. Technical note: A novel technique to assess internal body fat of cattle by using real-time ultrasound. *J. Anim Sci.* 86: 763–767.
- Robles-Ozuna, L. E., L.A. Ochoa-Martínez. 2012. Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 13(2):109-122.
- Rodríguez, J. J., G. V. Barbosa-Cánovas, G. F. Gutiérrez-López, L. Dorantes-Álvarez, H. W. Yeom y Q. H. Zhang. 2003. An update on some key alternative food processing technologies: Microwave, pulsed electric field, high hydrostatic pressure, irradiation and ultrasound. En: *Food science and food biotechnology*. G. F. Gutiérrez-López y G. V. Barbosa-Cánovas eds. CRC Press. Boca Ratón, FL.
- Sánchez, I. y W. Albarracín. 2010. Análisis sensorial en carne. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 23: 227-239.
- Siró, I., Cs. Vén, Cs. Balla, G. Jonás, I. Zeke, L. Friederich. 2009. Application of an ultrasonic assisted curing technique for improving the difusión of sodium chloride in porcine meat. *J. Food Eng.* 91: 353-362.
- 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.
- Terefe, N.S., A.L. Sikes, P. Juliano. 2016. Ultrasound for Structural Modification of Food Products. En *Innovative Food Processing Technologies: Extraction, Separation, Component Modification and Process Intensification*. K. Knoerzer, P. Juliano y G. W. Smithers, Eds. Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- Ünver, A. 2016. Applications of ultrasound in food processing. *Green Chem. & Technol. Lett.* 2: 121-126.
- Viljoen, H. F., H. L. de Kock y E. C. Webb. 2002. Consumer acceptability of dark, firm and dry (DFD) and normal pH beef steaks. *Meat Sci.* 61: 181-185.
- Wang, A., D. Kang, W. Zhang, C. Zhang, Y. Zou, G. Zhou. 2018. Changes in calpain activity, protein degradation and microstructure of beef M. semitendinosus by the application of utrasound. *Food Chem.* 245: 724-730.

- Warner, R. D. 2017. The eating quality of meat—IV water-holding capacity and juiciness. En *Lawrie's Meat Science*. 8va Ed. Woodhead Publishing.
- Warris, P.D., Brown, S.N., Adams, S.J.M. 1990. Variation in haem pigment concentration and colour in meat from British pigs. *Meat Sci.* 28, 321-329.
- Warris, P. D. 2010. Meat science: An introductory text. 2da Ed. CABI Publishing. Modular Texts. New York, NY.
- Wheeler, T. L. , S. D. Shackelford, M. Koohmaraie. 2000. Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. *J. Anim. Sci.* 78: 958–965.

**ESTUDIO I. TRANSFERENCIA DE MASA, CALIDAD FISICOQUÍMICA Y
MICROBIOLÓGICA EN CARNE DE CERDO MARINADA CON ULTRASONIDO
DE ALTA INTENSIDAD**

POR:

Bianka Yhalí Cruz Garibaldi¹ y Luis Manuel Carrillo López^{1,2}

¹ Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua

² Programa Cátedras CONACYT, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología,

México

RESUMEN

TRANSFERENCIA DE MASA, CALIDAD FISICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA

EN CARNE DE CERDO MARINADA CON ULTRASONIDO DE ALTA

INTENSIDAD

POR:

M.V.Z. BIANKA YHALÍ CRUZ GARIBALDI

Maestría en Ciencias en Producción Animal

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Dr. Luis Manuel Carrillo López

En esta investigación se estudió el efecto que tiene el sistema ultrasónico (baño y sonda -amplitud 50 y 100 %-) y el tamaño del músculo (3 y 5 cm³) en la calidad fisicoquímica, rendimiento y conteos de bacterias de interés. Los resultados mostraron una cantidad mayor de sal ($P < 0.0001$) en cubos de 3 cm³ (11.54 %) y 5 cm³ (8.88%) marinados por inmersión (controles) de 24 h. Los cubos de 3 cm³ marinados en sistema de sonda 100 % durante 20 min presentaron una cantidad de sal (9.55 %) bastante cercana a los controles. Los cubos de 3 cm³ tratados por inmersión y en sistema de sonda 50 % ganaron más peso relativo (con relación al peso inicial, 7.45 y 6.64 %, respectivamente) después de 7 días a 4 °C, mientras que los cubos de 5 cm³ marinados por inmersión ganaron 8.1 %; en los demás tratamientos hubo pérdida de peso. Aunque se encontraron diferencias significativas en el peso fresco y en la capacidad de retención de agua en los cubos

de carne de 3 y 5 cm³, estas determinaciones se correlacionaron pobremente con el peso fresco relativo, el cual constituye una medida real de la ganancia en peso y tiene mayor relevancia para la industria; los cubos con mayor transferencia de sales experimentaron un fenómeno de “deshidratación”, reteniendo menor cantidad de agua. Los cubos de 3 y 5 cm³ en sistema de inmersión presentaron tonos anaranjados debido al largo tiempo del proceso, mientras que el sistema de sonda produjo tonos más rojos y brillosos. El ultrasonido no es eficiente para el control de bacterias mesófilas, psicrófilas ni coliformes, sin embargo el aumento significativo en los conteos de BAL puede traer beneficios para la conservación de la carne durante el almacenamiento en refrigeración.

ABSTRACT

MASS TRANSFER, PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL QUALITY IN MARINATED PORK MEAT WITH HIGH INTENSITY ULTRASOUND

BY:

M.V.Z. BIANKA YHALÍ CRUZ GARIBALDI

This study evaluated the effect of the ultrasonic system (bath or probe, amplitude 50 or 100 %) and muscle sample size (3 cm³ or 5 cm³) on physicochemical quality, yield (salt content, fresh weight and relative fresh weight) and bacteria counts associated to pork. The results showed a significantly high salt ($p < 0.0001$) content in 3 cm³ (11.54 %) and 5 cm³ (8.88 %) samples after 24 h marination by immersion. The 3 cm³ cubes marinated in a 100% probe system for 20 min presented an amount of salt (9.55 %), quite close to the controls. The 3 cm³ samples treated by immersion and in a 50 % probe system, gained more relative weight (in relation to the initial weight, 7.45 % and 6.64 %, respectively) after 7 d at 4 °C. Meanwhile the 5 cm³ cubes marinated by immersion gained 8.1 %. The other treatments showed a weight loss after treatment. Although significant differences were found in the fresh weight and in water holding capacity in the 3 cm³ and 5 cm³ meat samples, these determinations were poorly correlated with the relative fresh weight, which constitutes a real measure of weight gain that is more relevant for the industry. Thus, the samples with the highest salt transfer experienced a phenomenon of "dehydration", retaining less water. The 3 cm³ and 5 cm³ cubes marinated by immersion presented orange colour tones, due to the long processing time, while the

probe system produced redder and brighter tones. Ultrasound as a technology to assist in marinades is not efficient for bacteria control of mesophilic, psychophilic, or coliform. However, a significant increase in LAB counts may bring benefits for meat preservation during refrigerated storage.

INTRODUCCION

El marinado de la carne consiste en la incorporación de ingredientes al músculo crudo, principalmente sales. Sin embargo, pueden agregarse otros aditivos como azúcar, ácidos orgánicos y/o especias como saborizantes y colorantes, los cuales difunden mediante el proceso de ósmosis hacia el interior de la carne (Turhan *et al.*, 2013; Yusop *et al.*, 2011). El marinado tradicional de la carne requiere de tiempos mínimos de 12 h para asegurar que los solutos migren eficientemente al interior del músculo, por lo que se necesitan técnicas novedosas que aceleren el proceso de absorción y disminuyan el daño microestructural por efecto de los tiempos largos de marinado (Inguglia *et al.*, 2019). La sal (NaCl) constituye el ingrediente primordial en la salmuera porque aumenta el ablandamiento del músculo y constituye un atributo de sabor desde el punto de vista sensorial, sin embargo, las recientes medidas regulatorias han derivado en la disminución en el consumo de sal debido a los problemas de salud asociados al sodio. A este respecto, estudios con ultrasonido de alta intensidad han demostrado su eficacia para lograr perfiles de distribución homogénea y mayor % en peso de sodio en carne de bovino, por lo que esta tecnología es promisoría para la disminución en los tiempos de marinado y la aceptación de productos bajos en sodio debido a la uniformidad de la sal en el interior del músculo (González-González *et al.*, 2017); este fenómeno ha sido explicado como “efecto esponja”, en el que las fluctuaciones de presión entre los ciclos de compresión y rarefacción de la onda de sonido conduce a una mejor distribución de la salmuera dentro de la carne (Cárcel *et al.*, 2007). El ultrasonido es una tecnología física cuyo efecto se debe al fenómeno de cavitación, el cual consiste en la formación de burbujas que crecen e implosionan

causando daños a la estructura muscular y microcanales por los que la salmuera ingresa al músculo y afectando las propiedades fisicoquímicas como la dureza y la capacidad de retención de agua (Kang *et al.*, 2016). Debido a las bondades que brinda el ultrasonido como tecnología asistida al marinado tradicional de la carne, los últimos estudios se han enfocado al uso del ultrasonido tanto en sistema de baño como de sonda, en carne de res, cerdo y ave, primordialmente. Sin embargo, existe heterogeneidad en los parámetros utilizados (sistema ultrasónico, frecuencias, intensidades, tiempos, concentraciones de sal, etc.), haciendo difícil la obtención de resultados concluyentes y el escalamiento a nivel industrial. Ejemplo de esto es el uso de intensidades tan altas como 54-61 W*cm⁻² (Cárcel *et al.*, 2007) y tan bajas como 2-4 W*cm⁻² (Siró *et al.*, 2009), encontrando en ambos casos efecto positivo en la transferencia de sales. Otro ejemplo en cuanto al sistema ultrasónico lo constituye el estudio realizado por Inguglia *et al.* (2019), quienes encontraron una absorción significativamente mayor en pechugas de pollo tratadas con ultrasonido en sistema de baño (25, 45 y 130 kHz y 4.7, 5.5 y 7.2 W, respectivamente), alcanzando la absorción deseada en tan solo 1 h en comparación a las 16 h del marinado tradicional. Por otro lado, resultados semejantes fueron reportados por Kang *et al.* (2016) en carne de res tratada con diferentes intensidades de ultrasonido (150-300 W) y concentraciones de sal (3-6%); estos investigadores utilizaron un sistema de sonda ultrasónica (30-120 min) y encontraron un aumento en la absorción de NaCl y agua en la carne tratada y mayores espacios interfibrilares conforme se incrementó la intensidad. A pesar de la divergencia en los estudios, la mayoría de estos han demostrado que el ultrasonido disminuye los tiempos de marinado en comparación al sistema de inmersión (tradicional) (Alarcon *et al.*, 2015;

Jayasooriya *et al.*, 2007; McDonell *et al.*, 2014), independientemente de los parámetros utilizados. A fin de elucidar el efecto que tiene el sistema ultrasónico y el tamaño del músculo en el proceso de marinado de carne de cerdo, en esta investigación se diseñó un experimento completamente al azar para evaluar la transferencia de sales. Con el objetivo de encontrar ventajas adicionales del ultrasonido como tecnología asistida al marinado, se realizó un seguimiento sobre el rendimiento (ganancia y/o pérdida de peso) y los conteos de grupos de bacterias de interés.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procedencia de Muestras y Asignación de Tratamientos

Se utilizaron cuatro piernas de cerdo, provenientes de grupo Bafar S.A. de C.V., Chihuahua, México. Las piernas de cerdo se encontraban almacenadas a -20°C . Los cortes utilizados (pulpa negra y bola) fueron cubos de 5 cm^3 y 3 cm^3 , dando un total de 24 muestras al considerar 3 repeticiones y ocho tratamientos. Previamente se eliminó tejido conectivo y grasa. Se mantuvieron en estado de congelación y se asignaron los tratamientos de manera totalmente aleatorizada. La descongelación se realizó a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 48 h. Para la solución de marinado se utilizó 1 litro de salmuera básica al 17 % conteniendo sales de sodio (cloruros y fosfatos). Para los tratamientos con ultrasonido (US, tanto sistema de baño ultrasónico como procesador ultrasónico con sonda) el tiempo de marinado fue de 20 min (10 min por lado). La temperatura se mantuvo constante durante el proceso de marinado, a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Los tratamientos aplicados fueron ocho, cuatro de ellos en un sistema de procesador ultrasónico Hielscher UP400St (50 y 100% de amplitud, 24 kHz, 400 W en modo continuo), dos tratamientos en un sistema de baño (37 kHz y $22\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$, Elmasonic S60H) y otros dos en un sistema de marinado tradicional por inmersión (24 horas a 4°C). La descripción de los tratamientos fue la siguiente: (1) baño de US, cubo de 3 cm^3 , (2) baño de US, cubo de 5 cm^3 , (3) procesador ultrasónico con amplitud del 50%, cubo de 3 cm^3 , (4) procesador ultrasónico con amplitud del 50%, cubo de 5 cm^3 , (5) procesador ultrasónico con amplitud del 100%, cubo de 3 cm^3 , (6) procesador ultrasónico con amplitud del 100%, cubo de 5 cm^3 , (7) marinado por inmersión durante 24 h a 4°C , cubo de 3 cm^3 , (8) marinado por inmersión durante 24 h a 4°C , cubo de 3 cm^3 . Después del

proceso de marinado las muestras fueron empacadas al vacío y se almacenaron a 4 °C durante 7 días. Cumplido el periodo de almacenamiento, las muestras fueron abiertas para determinar las variables fisicoquímicas y microbiológicas.

Determinación de Porcentaje de Cloruros

Se utilizó la metodología de Mohr (AOAC International, 2000) para la determinación del porcentaje de sal (cloruros) a los 7 d de almacenamiento a 4 °C. Primeramente se homogeneizaron 25 g de muestra en un vaso de precipitados conteniendo 50 mL de agua destilada, se llevó a ebullición y una vez fría la muestra se filtró con papel Whatman No. 4. Se transfirió la muestra a un matraz aforado de 100 ml. Se tomaron 5 mL del filtrado en un matraz Erlenmeyer de 125 mL y se añadieron tres gotas de $K_2Cr_2O_7$. Finalmente se tituló la muestra con una solución de $AgNO_3$ 0.1 N, hasta obtener un color anaranjado. Se calculó el porcentaje de sal por triplicado.

Capacidad de Retención de Agua (CRA)

La CRA fue determinada utilizando la técnica de compresión propuesta por Tsai y Ockerman (1981) a los 7 d de almacenamiento a 4 °C. Las muestras (peso promedio de 0.3 gramos) fueron colocadas en un papel filtro Whatman No. 4, fueron pesadas antes (Pa) y después de someterse a un peso de 30 kg (tres placas de metacrilato de 10 kg cada una) durante 5 min (Pp). La capacidad de retención de agua fue calculada mediante la siguiente ecuación:

$$\text{CRA (\%)} = 100 - \text{Agua libre}$$

$$\text{Agua libre} = \left(\frac{\text{peso final del papel filtro} - \text{peso inicial del papel filtro}}{\text{peso de la muestra}} \right) * 100$$

Color

Se obtuvieron los parámetros de color CIEL a^* b^* con un colorímetro (Konica Minolta, CR 400, USA). La medición se llevó a cabo mediante el sistema de referencia CIE (Comission Internationale Pour l'Eclairige), de acuerdo a la metodología expuesta en el manual del AMSA (AMSA, 2012). Primeramente se oxigenó la muestra y se realizaron tres lecturas por muestra registrando los valores L^* , a^* b^* . Se calcularon el ángulo hue (H°) y el croma (C^*) por medio de las siguientes expresiones: C^* (croma o saturación) = $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, H° (ángulo hue) = $\arctan(b^*/a^*)$.

Evaluación Microbiológica

El conteo microbiológico se llevó a cabo mediante la técnica de conteo en placa para bacterias psicrófilas, mesófilas, coliformes totales y bacterias ácidolácticas. 1 mL de exudado de cada muestra empacada al vacío fue colectado y diluido desde 1:10 hasta 1:1,000,000 usando un diluyente estéril (agua peptonada preparada con 0.1 g/L de peptona). 1000 μL de cada solución fueron inoculados en el medio específico descrito a continuación utilizando la técnica de vaciado en placa (Maturin y Peeler, 1998). En aquellas muestras que tuvieron escasez de exudado en el empaque después del almacenamiento a 4 °C, se tomó 1 g de muestra y se colocó en bolsas estériles (Lab Plas, 4 x 6 pulgadas) para homogeneizar en el

Stomacher® 80 (Seward), utilizando 9 mL de agua peptonada al 0.1 %. Para la determinación de bacterias mesófilas y psicrófilas se utilizó agar nutritivo (CM0325, Oxoid, Basingstoke, UK); la incubación aeróbica se llevó a cabo a $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante $48\text{ h} \pm 2\text{ h}$ y $4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 168 h, respectivamente; para coliformes totales se utilizó medio de cultivo agar rojo violeta bilis glucosa (CM0485B, Oxoid, Basingstoke, UK). Una sobrecapa de 5 mL fue colocada una vez que las placas solidificaron para favorecer el crecimiento de coliformes facultativos, siguiendo la metodología de la FDA (2004). Las placas fueron incubadas a $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante $48 \pm 2\text{ h}$. Para el conteo de bacterias ácidolácticas se utilizó medio de cultivo Agar De Man, Rogosa y Sharpe (MRS, CM0361; Oxoid) y la incubación se llevó a cabo a 30 °C durante 120 h (Vera, Rigobello y Demarignya, 2009). Para favorecer las condiciones de anaerobiosis se utilizó el método tradicional (utilizando una vela que agotara el oxígeno en el medio). Para calcular las unidades formadoras de colonia (UFC/mL), el número de colonias fue multiplicado por el factor de dilución. Los resultados en UFC/mL fueron transformados logarítmicamente (\log_{10}) antes del análisis estadístico.

Análisis Estadístico

El análisis de datos de las variables respuesta, tanto fisicoquímicas como microbiológicas, se llevó a cabo mediante el programa estadístico SAS 9.4 TS Level 1M1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) y se realizó la comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de NaCl y Capacidad de Retención de Agua (CRA)

Con relación al contenido de sal (Gráfica 1) los resultados mostraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, independientemente del tamaño del músculo evaluado (3 o 5 cm³, $P < 0.0001$). Los cubos de carne de 3 cm³ marinados por inmersión durante 24 h presentaron mayor cantidad de sal (11.54%); si bien los cubos tratados con ultrasonido no igualaron la cantidad de sal de los controles, aquellos marinados con una amplitud del 100% mediante el sistema de sonda presentaron una cantidad de NaCl relativamente cercana a los controles (9.55%), mientras que los sistemas de de baño y de sonda con amplitud del 50% fueron los menos eficientes para la transferencia de sales al músculo (7.82 y 6.55 % NaCl, respectivamente).

Resultados semejantes a lo observado fueron reportados por Inguglia *et al.* (2019), quienes encontraron una tasa mayor de absorción de sodio en muestras de pollo marinadas por inmersión durante 24 h (0.77 % Na) en comparación a las muestras tratadas con ultrasonido. A pesar de que los tiempos de marinado con ultrasonido fueron más altos que en el presente estudio (1, 3 y 6 h), la cantidad máxima de Na en las muestras de pollo fue de 0.68% utilizando salmuera con 8 % de NaCl. En el m. *Longissimus lumborum* porcino marinado durante 30 o 90 min, Contreras-Lopez *et al.* (2020) reportaron un aumento significativo en el % de NaCl en muestras tratadas con ultrasonido (37 kHz, 22 W/cm²) durante el marinado; estos investigadores utilizaron salmuera al 2%. Por otro lado, Turhan *et al.* (2013) reportaron resultados diferentes a los nuestros; el tratamiento con ultrasonido (20,

25 y 30 W*cm⁻², 10, 20 y 30 min) aceleró el transporte de NaCl en filetes de anchoa, de manera que hubo mayor contenido de sal conforme se incrementó la intensidad ultrasónica y el tiempo de marinado. Los controles (marinado por inmersión) tuvieron menor cantidad de sal debido a que los tiempos de marinado fueron demasiado cortos (10, 20 y 30 min). En el caso de los cubos de 5 cm³ el comportamiento fue diferente; nuevamente los controles (cubos marinados por inmersión) presentaron la mayor cantidad de sal (8.88%). Sin embargo el tratamiento de sonda 50% fue el más cercano a los controles (5.86%), mientras que los tratamientos con baño y con sonda 100% fueron los menos eficientes en la transferencia de sales (4.59 y 4.03 %, respectivamente).

Esto sugiere que cuando el tamaño del músculo es mayor (5 cm³ vs 3 cm³) la transferencia de masa desde la salmuera es más lenta, por lo que es necesario incrementar el tiempo del proceso, ya sea por inmersión o con la asistencia de ultrasonido. A este respecto, Contreras-Lopez *et al.* reportaron que los cortes delgados (1.25 cm) del m. *Longissimus lumborum* porcino tratados con ultrasonido, tuvieron mayor contenido de NaCl que los controles (marinado por inmersión), independientemente del tiempo de marinado (30 o 90 min), mientras que cortes gruesos (2.54 cm) presentaron un bajo contenido de NaCl. Estos resultados son semejantes a los del presente estudio, en el cual cubos grandes (5 cm³) tienen una transferencia lenta de masa durante el marinado. Por lo tanto, el tratamiento de marinado asistido por ultrasonido de 20 min no es suficiente para alcanzar la absorción lograda con el marinado tradicional, por lo que bajo las condiciones experimentales de esta investigación es necesario incrementar los tiempos de

marinado con ultrasonido en los cubos de 5 cm³. Inguglia *et al.* utilizaron filetes de pechuga de pollo de 40 g durante el marinado asistido con baño ultrasónico (25, 45 y 130 kHz), de allí que tiempos de 1, 3 y 6 h fueron suficientes para lograr un mayor % de NaCl en comparación con el marinado por inmersión. En nuestro caso el grosor de las muestras fue de 5 cm³, por lo que 20 min no fueron suficientes para lograr la transferencia de NaCl desde la salmuera. En el caso de Turhan *et al.* (2013) utilizaron filetes de anchoas (*Engraulis encrasicolus*) de 40 g, De manera que tiempos de 10 min fueron suficientes para las muestras tratadas con ultrasonido (30 W*cm⁻²) presentaran mayor transporte de NaCl que aquellas con marinado estático. Estudios en carne de cerdo como el de McDonnell, Lyng y Allen (2014) mostraron que tanto el contenido de agua como el de NaCl se incrementaron significativamente en el m. *Longissimus thoracis* porcino (cilindros de 35 mm de diámetro x 25 mm de largo, 25 g) conforme se incrementó el tiempo de tratamiento con ultrasonido (10, 25 y 40 min) y la intensidad (4.2, 11 y 19 W/cm²); estos investigadores utilizaron salmuera al 5.7 % (NaCl).

En cuanto a CRA en el músculo (Gráfica 2), se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($P < 0.0001$). Los resultados mostraron una tendencia inversa con el contenido de NaCl. Esto es, los músculos que presentaron mayor CRA tuvieron menor contenido de NaCl (5 cm³) y viceversa (3 cm³), de manera que los cubos con mayor transferencia de sales experimentaron un aparente fenómeno de “deshidratación”, reteniendo menor cantidad de agua.

Esto se explica por el fenómeno de ósmosis, en el que la solución de sal (semi-concentrada) utilizada en la salmuera (17%) causó la deshidratación de la

carne. De esta manera, los cubos de 5 cm³, cuyos valores en contenido de NaCl fueron bajos (5-8%), presentaron valores de CRA de 80% (tratamientos de inmersión y de baño ultrasónico), mientras que aquellos cubos de 3 cm³ con contenidos de NaCl entre 10 y 12 % presentaron una CRA del 70%. Sin duda, este fenómeno es de gran relevancia en la tecnología de la carne, ya que una elevada CRA repercute sustancialmente en el rendimiento y en las utilidades de la industria cárnica. Kang *et al.* (2017) reportaron que el ultrasonido de potencia con sistema de sonda (150 y 300 W, 20 kHz, 30 y 120 min) aumentó significativamente la CRA en *Longissimus dorsi* debido a la polimerización causada por la oxidación moderada de la miosina.

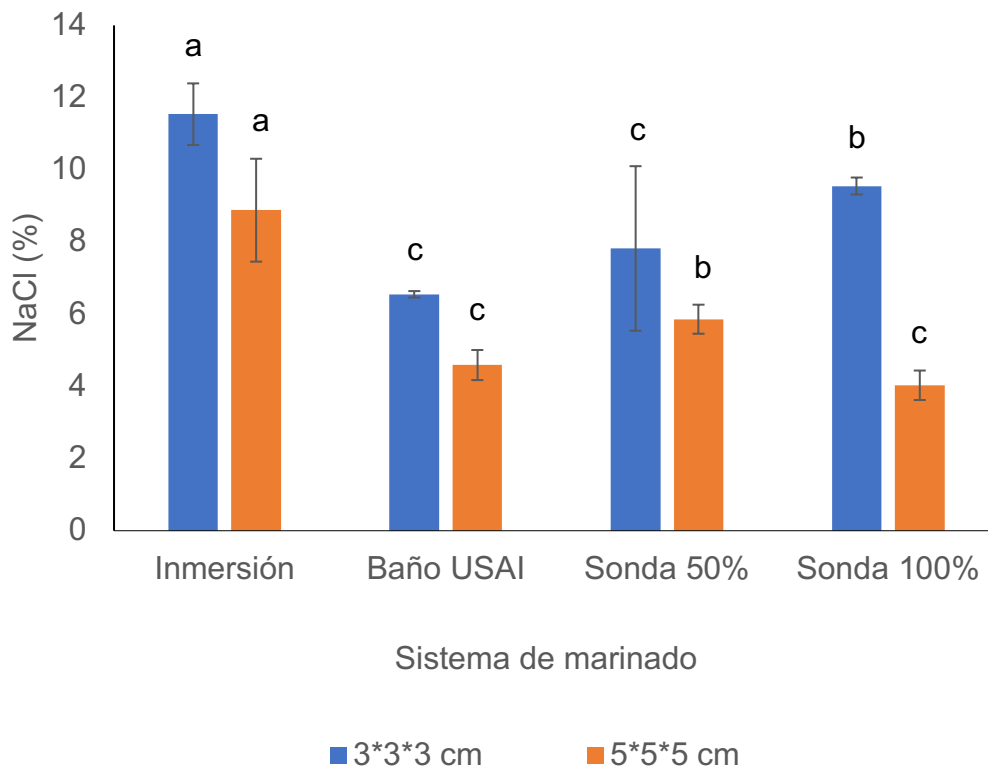
Estos resultados fueron corroborados mediante estudios de microscopía electrónica que permitieron observar hinchazón e interrupción de miofibrillas. Los resultados en cubos de 5 cm³ son semejantes a los de Kang *et al.* (2017), al presentar una elevada CRA en comparación a los cubos de 3 cm³; estos investigadores utilizaron una concentración baja de NaCl en la salmuera (6%) para filetes de 10 mm de grosor. Resultados semejantes fueron reportados por Contreras-Lopez *et al.* (2020) en el m. *Longissimus lumborum* de cerdo, quienes encontraron que la CRA no presenta cambios significativos por efecto del tiempo de marinado, sin embargo los filetes gruesos (2.54 cm) tienen mayor CRA que los delgados (1.25 cm) debido a que la mayor superficie expuesta (relación área/volumen) permitió una mayor capacidad para absorber agua y/o solutos durante el proceso de marinado asistido con ultrasonido. En cambio, en cubos de 3 cm³ la CRA se redujo debido a la alta concentración de NaCl (10-12%) en el

músculo. Lo cual ocasionó deshidratación en el tejido. A este respecto, Stadnik *et al.* (2008) reportaron que el decremento en la CRA de *m. Semimembranosus* bovino tratado con ultrasonido (2 min, 45 kHz) en la etapa post mortem (24 h) se debe a la aceleración del proceso de envejecimiento (destrucción estructural de sarcómeros y fragmentación de miofibrillas).

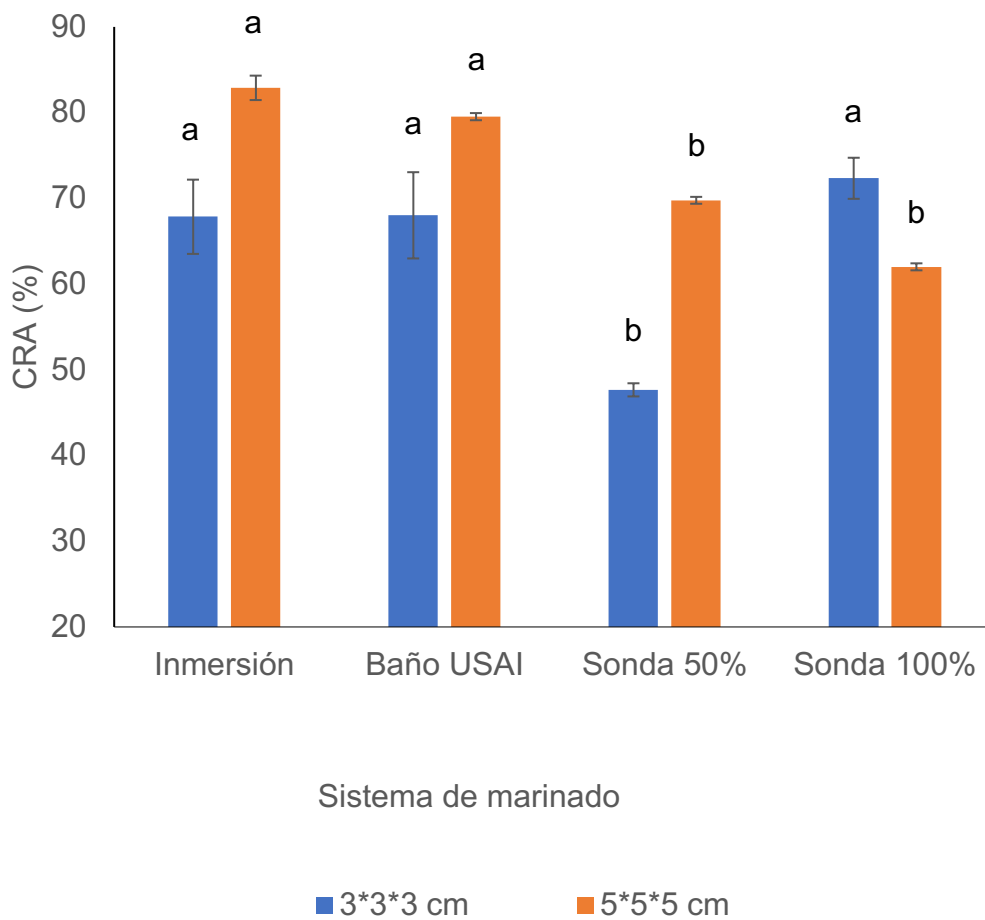
Estos resultados son semejantes con la baja CRA en cubos de 5 cm³ tratados con ultrasonido en sistema de sonda (tanto 50 como 100%). Sin embargo, McDonell *et al.* (2014) no encontraron efecto del ultrasonido de potencia (4.2, 11 y 19 W*cm⁻², 10, 25 o 40 min) en la CRA de carne de cerdo marinada. Ellos reportaron que el salado con ultrasonido es un fenómeno superficial que puede acelerar la transferencia de masa y extraer proteínas pero desnaturaliza a la miosina cuando se utilizan altas potencias. Finalmente, Siró *et al.* (2009) encontraron que el ultrasonido de baja frecuencia y baja intensidad (20 kHz, 2-4 W*cm⁻²) aplicado en *longissimus dorsi* porcino marinado con NaCl (40 g*L⁻¹), mejoró la CRA cuando se utilizaron tiempos largos e intensidades altas, debido a la desnaturalización de proteínas.

Peso fresco y ganancia/pérdida de peso

En cuanto al peso fresco del músculo de 3 cm³ (Gráfica 3), se encontraron diferencias significativas ($P < 0.0001$) entre tratamientos (inmersión y/o ultrasonido con sistema de baño y sonda), tanto inmediatamente después del tratamiento de marinado como después de 7 d de almacenamiento a 4 °C. Los cubos de 3 cm³ tratados con sistema de sonda 50% tuvieron el mayor peso fresco (43.71 y 39.92 g,



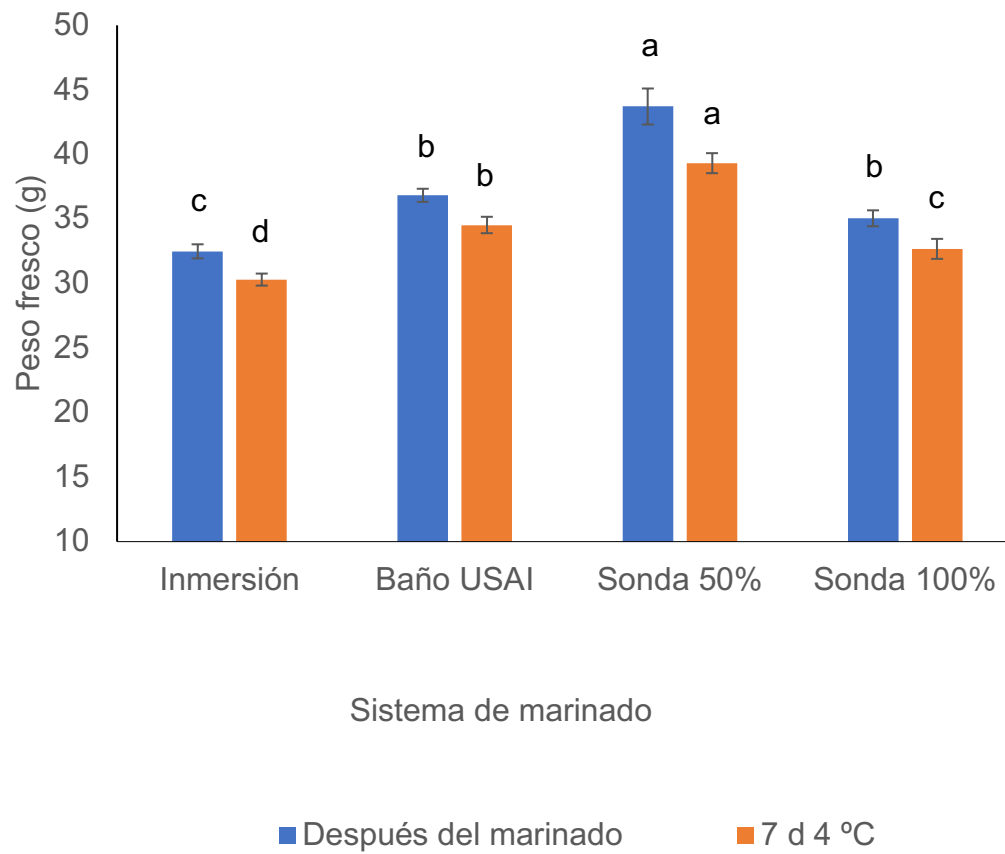
Gráfica 1. Medias (\pm D.E.) del contenido de cloruro de sodio del m. *Longissimus dorsi* porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm³.



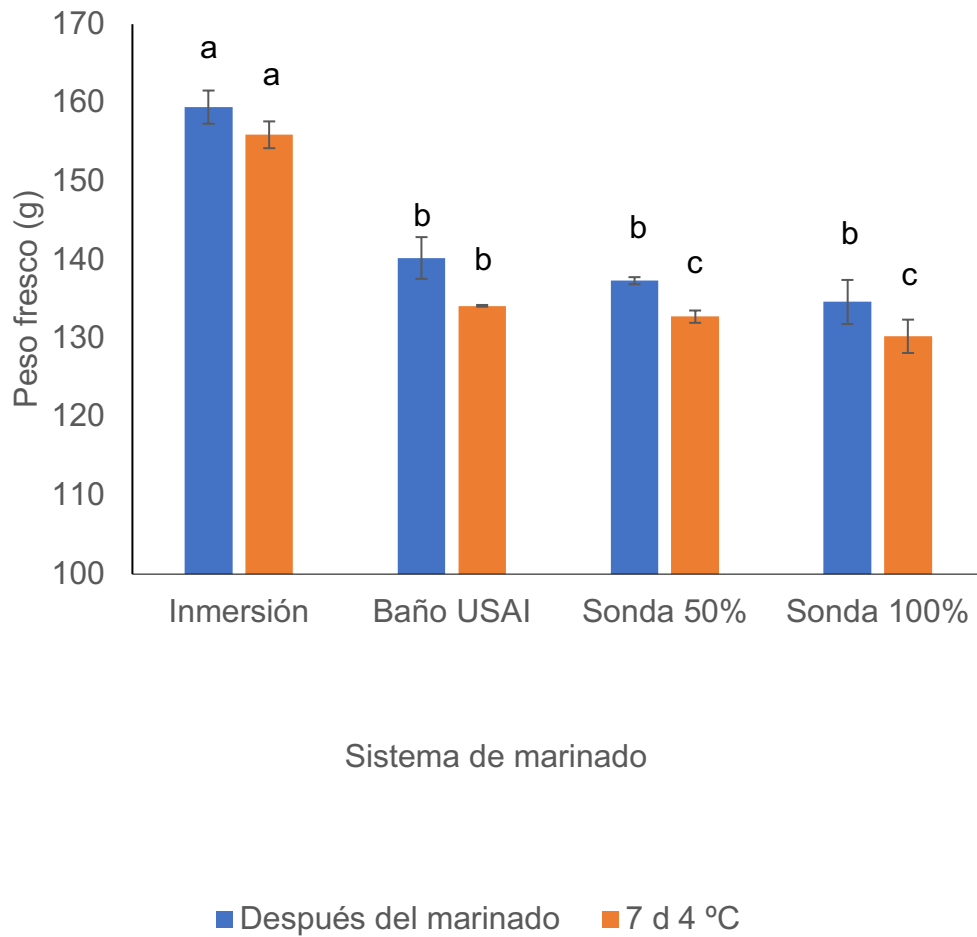
Gráfica 2. Medias (\pm D.E.) del contenido de cloruro de sodio del m. *Longissimus dorsi* porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm³.

inmediatamente después del marinado y después de 7 d a 4 °C, respectivamente), seguido por los tratamientos con USAI (sonda 100% y baño), mientras que los cubos tratados con marinado por inmersión presentaron los pesos más bajos (32.49 y 30.3 g, inmediatamente después del marinado y después de 7 d a 4 °C, respectivamente). En general, el peso fresco se mantuvo desde el inicio del proceso de marinado hasta después del almacenamiento a 4°C. En cuanto a los cubos de 5 cm³ (Gráfica 4), el comportamiento en el peso fresco durante el proceso de marinado fue diferente ($P < 0.0001$). En este caso, los cubos tratados por inmersión presentaron el mayor peso fresco (159.44 y 155.92 g, inmediatamente después del marinado y después de 7 d a 4 °C, respectivamente). Mientras que los demás tratamientos presentaron valores de peso fresco estadísticamente iguales. El peso fresco se mantuvo durante el almacenamiento a 4°C.

En el diseño experimental, las unidades experimentales tienden a presentar pequeñas variaciones. En nuestro caso, los cubos de carne pueden presentar diferencias mínimas en el peso fresco (tanto los cubos de 3 como los de 5 cm³, Gráficas 5 y 6, respectivamente). Por esto, el peso fresco relativo constituye una variable respuesta más objetiva que la capacidad de retención de agua, expresando la variación real del peso fresco con respecto al peso inicial del músculo durante el proceso de marinado. Relacionado con esto, las mediciones de CRA se realizaron únicamente después del almacenamiento de 7 d a 4 °C. Por lo que los resultados entre CRA y peso fresco difieren notablemente para un mismo tratamiento; para ser



Gráfica 3. Medias (\pm D.E.) del peso fresco del m. *Longissimus dorsi* porcino inmediatamente después del tratamiento y después de 7 d de almacenamiento a 4 °C, por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 cm³.



Gráfica 4. Medias (\pm D.E.) del peso fresco del m. *Longissimus dorsi* porcino inmediatamente después del tratamiento y después de 7 d de almacenamiento a 4 °C, por efecto del sistema de marinado en músculos de 5 cm³.

comparables, ambas variables deben medirse en el tiempo (antes del tratamiento de USAI, inmediatamente después del USAI y durante el almacenamiento a 4 °C).

Las Gráficas 5 y 6 ilustran el peso fresco relativo (considerando como 100% el peso original de cada tratamiento con sus tres repeticiones) en diferentes momentos del proceso de marinado. Las muestras de 3 cm³ tratadas con USAI en sistema de sonda 50% y aquellas tratadas por inmersión fueron las que ganaron más peso fresco inmediatamente después del tratamiento (15-18% del peso original) y después del almacenamiento de 7 d a 4 °C (6-7% del peso inicial).

Por otro lado, los tratamientos de USAI-sonda 100% y baño fueron los que ganaron menos peso durante el proceso de marinado, de manera que después de 7 d a 4 °C perdieron entre 2-4% del peso inicial (Gráfica 5). En cuanto a los cubos de 5 cm³, la tendencia fue diferente; en este caso el tratamiento por inmersión fue el que ganó más peso durante el proceso de marinado, incrementando hasta en 8% el peso inicial después de 7 d a 4 °C, mientras que los demás tratamientos perdieron entre 1-3% del peso inicial después del almacenamiento (Gráfica 6). Esto indica que los cubos de 5 cm³ debieron ser tratados durante más tiempo durante el marinado asistido por USAI. Para los cubos de 3 cm³ el marinado con sonda 50% constituye la tecnología idónea para la transferencia de sales y ganancia de peso fresco durante el marinado. Los resultados obtenidos son semejantes al marinado por inmersión, permitiendo una reducción en el tiempo de proceso desde 24 h hasta 20 min.

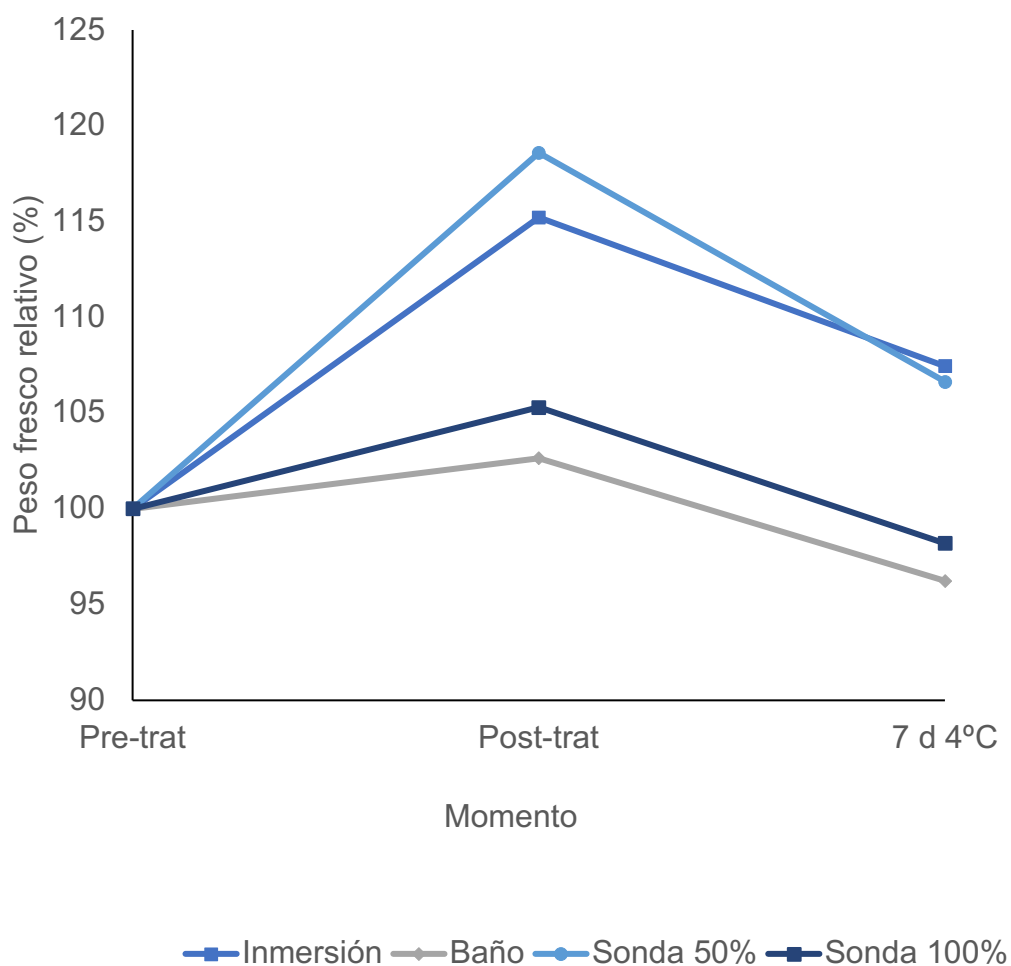
Resultados semejantes a los nuestros fueron reportados por Chang *et al.* (2015), quienes observaron que muestras de carne de res (2.5 x 5 x 5 cm, 100 g de

peso) tratadas durante 30 min con ultrasonido (procesador ultrasónico, 40 kHz, 1500 W) presentaron un rendimiento de exudado significativamente más alto que aquellas sonicadas durante 20 min, de manera que las altas presiones dentro del medio resultan en una mayor cantidad de exudado y menor rendimiento (menor peso fresco). En cuanto a la pérdida por goteo, estos investigadores también reportaron que las muestras tratadas con ultrasonido presentaron mayores tasas de pérdida de agua.

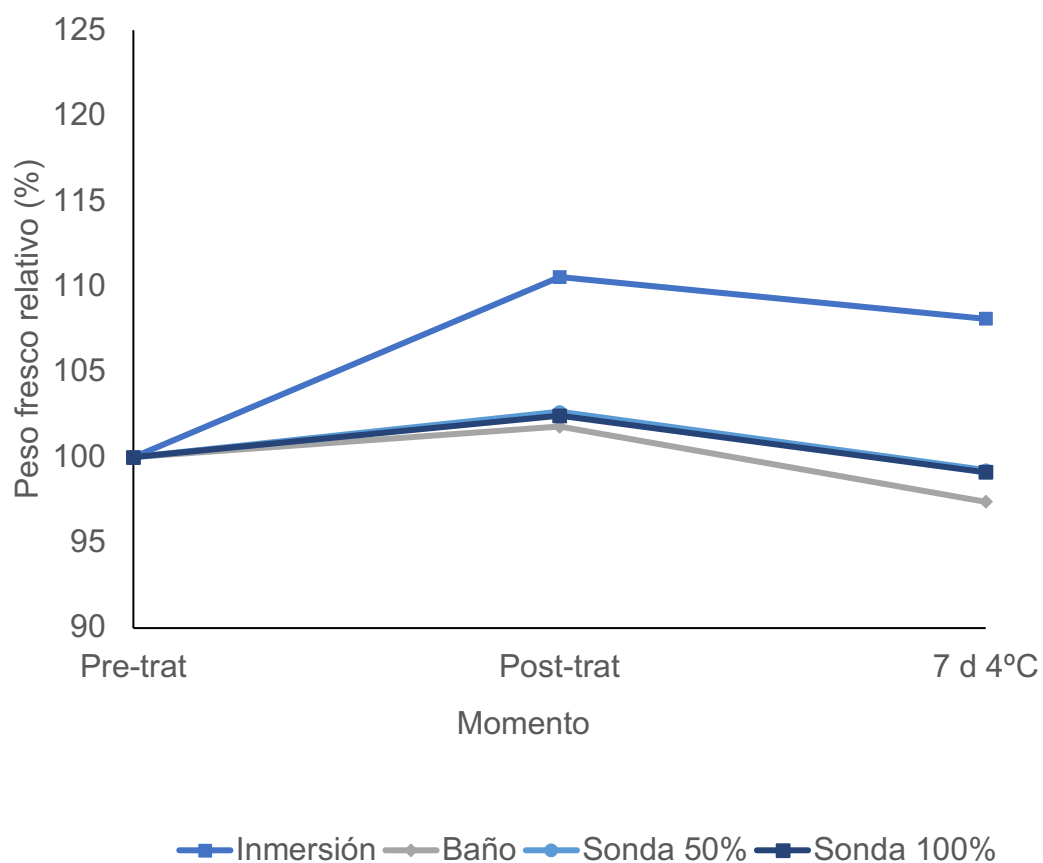
Por otro lado, Stadnik *et al.* (2008) documentaron que la capacidad de retención de agua de músculo *semimenbranosus* bovino tratado con ultrasonido (2 min, 45 kHz) es más baja que en los controles debido a la interrupción de la estructura celular. Smith (2011) también trabajó en el marinado de filetes de pechugas de pollo durante 20 min utilizando una salmuera a base de NaCl y tripolifosfato de sodio (6 y 3 %, respectivamente); este investigador reportó que el tratamiento con ultrasonido redujo la absorción, las pérdidas por goteo y el rendimiento por cocción, de manera que los controles (marinado estático) presentaron mayor absorción pero mayor pérdida por goteo (menor rendimiento). Estos resultados difieren de lo observado, ya que los tratamientos con ultrasonido tanto en cubos de 3 como de 5 cm³ tuvieron menor absorción que los controles después del almacenamiento a 4 °C.

Color CIEL*a*b*

La luminosidad (L*) se incrementó significativamente (P = 0.0023) cuando los cubos de 3 cm³ fueron marinados por inmersión y con sistema de sonda 50%, mientras



Gráfica 5. Comportamiento del peso fresco (ganancia y/o pérdida) del m. *Longissimus dorsi* porcino durante el proceso de marinado (pre-trat, post-trat y después de 7 d de almacenamiento a 4 °C) para tamaño del músculo de 3 cm³. Pre-trat = antes del marinado; post-trat = después del marinado.



Gráfica 6. Comportamiento del peso fresco (ganancia y/o pérdida) del m. *Longissimus dorsi* porcino durante el proceso de marinado (pre-trat, post-trat y después de 7 d de almacenamiento a 4 °C) para tamaño del músculo de 5 cm³. Pre-trat = antes del marinado; post-trat = después del marinado.

que la tendencia al rojo (a^*) se afectó negativamente (disminución en el color rojo, $P < 0.0001$) en ambos tratamientos (Cuadro 3).

Desde el punto de vista comercial, la carne de res con mayor tendencia al rojo y con alta luminosidad es más atractiva visualmente para los consumidores. Mientras que en carne de cerdo se busca evitar la condición PSE (carne pálida, suave y exudativa) causada por estrés severo inmediatamente antes de su sacrificio, de manera que los consumidores prefieren la carne de cerdo de color rosa rojizo, en comparación con la carne de cerdo de color pálido. Por lo tanto, el USAI como tecnología asistida al marinado modifica positivamente la luminosidad pero negativamente el valor a^* cuando se utiliza sonda con amplitud 50%, mientras que en sistema de baño ocurre lo contrario (efecto positivo en a^* pero no en L^*). Estos resultados fueron corroborados con los valores obtenidos para hue y croma, los cuales conjuntan a las coordenadas $L^*a^*b^*$. Los cubos de 3 cm³ marinados por inmersión presentaron valores significativamente más altos de hue ($P < 0.0001$), indicando un tono más cercano al amarillo (mayor b^*) que al rojo. De manera que el sistema de baño fue el mejor al presentar un tono más rojo que los demás tratamientos (Cuadro 3). Finalmente, la saturación expresa lo atractivo y/o vistoso del tono, por lo que los tratamientos de inmersión y baño fueron los mejores al ser más brillosos visualmente.

Con relación a los cubos de 5 cm³ (Cuadro 3), se encontraron diferencias significativas en a^* y b^* pero no en L^* ($P < 0.0001$, $P < 0.0001$ y $P = 0.0266$, respectivamente). En este caso, el sistema de sonda 100% fue el mejor al presentar la mayor tendencia al rojo. Lo cual pudo ser corroborado por el menor ángulo hue

Cuadro 3. Medias (\pm desviación estándar) de los parámetros de color L*a*b* del m. *Longissimus dorsi* porcino del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C, por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm³

Tratamiento	CIEL*a*b*				
	L*	a*	b*	Hue	Saturación
Grosor 3 cm³					
Inmersión	51.3 \pm 0.6 ^a	3.3 \pm 0.2 ^b	7.4 \pm 0.0 ^a	65.6 \pm 1.2 ^a	8.2 \pm 0.1 ^a
Baño USAI	48.0 \pm 2.1 ^b	5.9 \pm 0.4 ^a	5.0 \pm 0.4 ^c	40.4 \pm 4.3 ^c	7.7 \pm 0.2 ^a
Sonda 50%	48.5 \pm 0.7 ^a	2.1 \pm 0.0 ^c	5.7 \pm 0.1 ^b	69.1 \pm 0.7 ^a	6.1 \pm 0.1 ^c
Sonda 100%	45.0 \pm 0.9 ^b	3.6 \pm 0.5 ^b	5.8 \pm 0.0 ^b	58.2 \pm 3.4 ^b	6.8 \pm 0.3 ^b
Grosor 5 cm³					
Inmersión	49.4 \pm 1.9 ^a	2.5 \pm 0.3 ^b	6.2 \pm 0.1 ^a	67.6 \pm 3.1 ^b	6.7 \pm 0.0 ^a
Baño USAI	49.8 \pm 1.4 ^a	1.3 \pm 0.2 ^c	5.1 \pm 0.3 ^b	75.1 \pm 2.7 ^a	5.3 \pm 0.2 ^b
Sonda 50%	46.1 \pm 1.5 ^a	3.3 \pm 0.4 ^b	4.0 \pm 0.1 ^c	50.4 \pm 3.9 ^c	5.2 \pm 0.3 ^b
Sonda 100%	46.1 \pm 0.9 ^a	5.5 \pm 0.3 ^a	4.9 \pm 0.2 ^b	42.0 \pm 0.3 ^d	7.4 \pm 0.4 ^a

(tonos rojos). Mientras que los tratamientos de sistema de inmersión y sonda 50% presentaron una tendencia al rojo baja y ángulo hue (tono) altos, indicando una mayor tendencia hacia los tonos amarillos. En cuanto a saturación también se encontraron diferencias significativas ($P < 0.0001$). De manera que los mejores tratamientos por ser más brillosos y menos opacos visualmente fueron el marinado por inmersión y sonda 100%. Por lo tanto, el USAI como tecnología asistida al marinado en cubos de 5 cm³ modifica positivamente la tendencia al rojo (a^*), el ángulo hue y la saturación del color cuando se utiliza sistema de sonda 100%, mientras que el sistema de baño es el tratamiento que modifica negativamente las coordenadas a^* , b^* , hue y saturación.

Resultados semejantes a los nuestros fueron reportados por Gómez-Salazar *et al.* (2018), quienes encontraron diferencias significativas en los valores de L^* , a^* y b^* en carne de conejo por efecto del marinado asistido con ultrasonido; estos investigadores observaron incrementos de L^* , a^* y b^* en muestras sonicadas, independientemente de la concentración de sal. En nuestro caso el comportamiento de L^* , a^* y b^* fue dependiente del sistema ultrasónico utilizado y del tamaño del músculo, de manera que los valores más altos en L^* y a^* fueron obtenidos tanto en muestras sonicadas como en los controles sin US (inmersión) debido a la divergencia en el tiempo de tratamiento. Ahora bien, los efectos que tiene el ultrasonido en los parámetros de color L^* , a^* y b^* divergen entre los diferentes estudios debido a la variabilidad en las condiciones experimentales durante el tratamiento con ultrasonido.

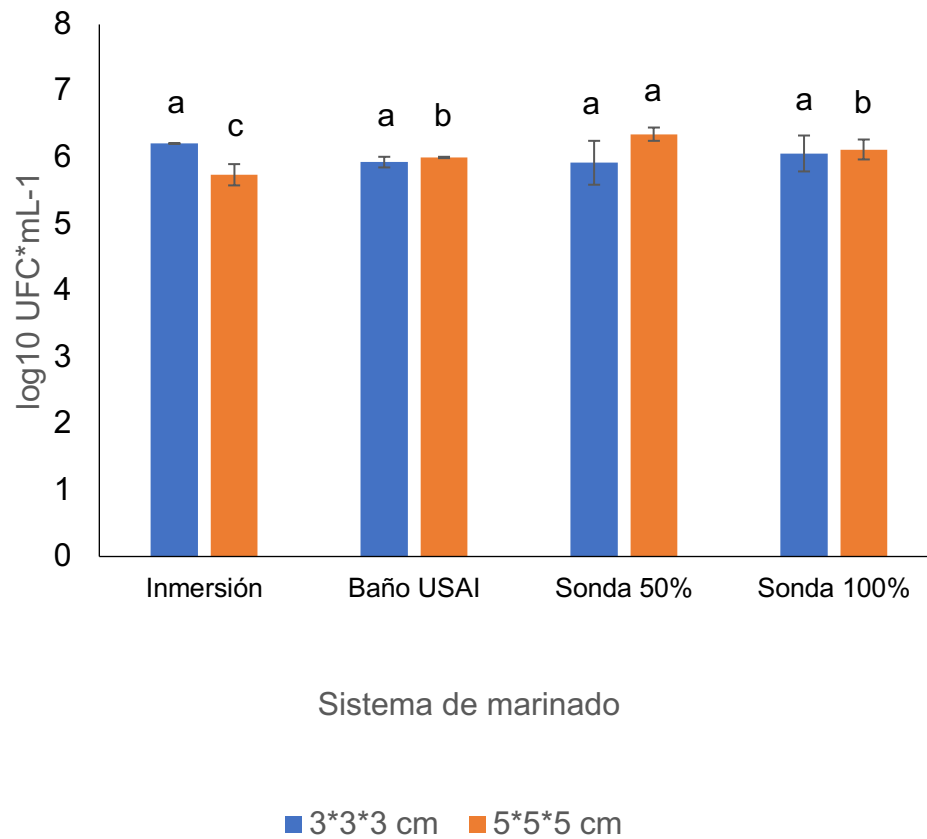
Chang *et al.* (2009) no encontraron diferencias significativas en los valores L^* y a^* en músculo *Semitendinosus* bovino. Sin embargo, el valor b^* se modificó significativamente por efecto del tiempo de exposición del músculo al ultrasonido. Contrariamente, Jayasooriya *et al.* (2007) no reportaron modificaciones en los parámetros L^* , a^* y b^* en *Semiteninosus* y *Longissimus lumborum et thoracis* por efecto del tratamiento con ultrasonido. Esta diferencia entre ambos estudios se explica por el tamaño de la muestra (unidades experimentales) durante el experimento, que en el caso de Jayasooriya *et al.* (2007) consistieron en muestras grandes (4 x 6 x 2 cm) y tiempos cortos (0.5-4 min). Por lo que, el fenómeno de cavitación no fue suficiente para causar cambios significativos en el color del músculo a pesar de que el tratamiento con ultrasonido se realizó a temperatura ambiente (15-30 °C). En cambio, en el estudio realizado por Chang *et al.* (2009) se utilizaron músculos más pequeños (2.5 x 5 x 5 cm) y tiempos largos (10-60 min) de ultrasonicación. Este mismo efecto se muestra en el presente estudio, en el cual los cubos de 5 cm³ no presentaron diferencias significativas en L^* por efecto del sistema de ultrasonido, mientras que los cubos de 3 cm³ presentaron diferencias significativas en L , a^* y b^* .

En estudios con músculos pectorales de bovino 24 h post-mortem tratados con ultrasonido, Pohlman, Dikeman y Kropf (1997) reportaron cambios desfavorables en el color durante el almacenamiento, de manera que los músculos se volvieron menos vivos, menos rojos y más anaranjados debido a la desnaturalización de la mioglobina por efecto de la temperatura durante el proceso de ultrasonicación.

Estos resultados son bastante cercanos a los obtenidos en esta investigación para los cubos de 3 cm³ en sistema de sonda 50% y en cubos de 5 cm³ para sistema de baño, cuyos valores altos de hue indican tonos rojos con tendencia hacia el amarillo (anaranjados). Los cambios en el color han sido atribuidos a los cambios en la estructura secundaria de las proteínas debido a la oxidación durante el procesamiento de curado; a este respecto, Kang *et al.* (2016) reportaron un aumento significativo en contenidos de carbonilo, disminución de grupos tiol totales y agregación de proteínas.

En la práctica es difícil que las coordenadas de color CIEL*a*b* se afecten positivamente cuando se aplica una tecnología. Es por esto que el USAI modifica positivamente ciertos parámetros de color afectando negativamente otros. Para los cubos de 3 cm³ el sistema de sonda 50% produjo mayor peso fresco y transferencia de sales durante el proceso de marinado. Sin embargo L* se afectó positivamente pero a* y el ángulo hue fueron afectados negativamente. Por el contrario, el sistema de baño presentó las mejores características de color (mayor a*, hue y saturación) pero la transferencia de sales y el peso fresco fueron relativamente bajos. En el caso de los cubos de 5 cm³ la transferencia de sales y la ganancia de peso fresco fueron bajos, por lo que los efectos positivos en a* y hue con sistema de sonda (tanto 50 como 100%) no son contundentes para recomendar el uso del USAI como tecnología asistida al marinado, aunque nos permite recomendar el incremento en los tiempos del proceso a fin de lograr perfiles elevados y homogéneos en la transferencia de sales e incremento en el peso fresco.

Conteos Microbiológicos



Gráfica 7. Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias mesófilas del m. *Longissimus dorsi* porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm³.

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en los conteos de bacterias mesófilas para los cubos de 3 cm³ (P = 0.374) (Gráfica 7). Para los cubos de 5 cm³ la tendencia fue diferente (Gráfica 7), ya que el tratamiento con sonda 50% fue el que presentó los conteos de bacterias más altos (6.35 log₁₀ UFC/mL), mientras que los demás tratamientos disminuyeron significativamente hasta en 0.61 log₁₀ los conteos de este grupo de bacterias (P = 0.0016).

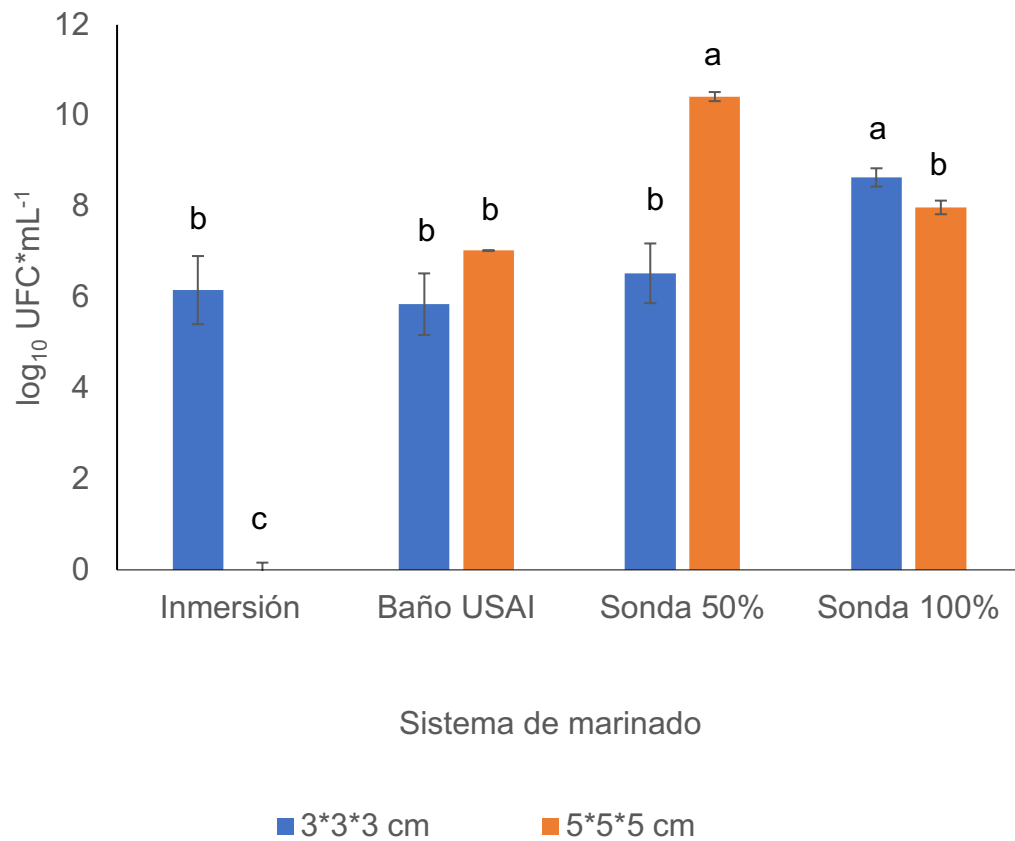
Las investigaciones que han evaluado el efecto del ultrasonido en carne no son contundentes. Mientras que Haughton *et al.* (2012) no encontraron una disminución significativa en la cuenta viable total de muslos de pollo tratados con ultrasonido, Dolatowski y Stasiak (2002) reportaron una disminución significativa en los conteos de bacterias mesófilas en carne de pollo fresco.

Resultados semejantes a los nuestros fueron observados por Piñon *et al.* (2012) y Carrillo-López *et al.* (2019), quienes reportaron un incremento en los conteos de bacterias mesófilas después de 7 días de almacenamiento a 4 °C en pechugas de pollo y *Longissimus dorsi* bovino tratados con ultrasonido, respectivamente. Joyce, Al-Hashimo & Mason (2011) encontraron que frecuencias de 20 y 40 kHz disminuyen las células viables e incrementan células muertas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, mientras que altas frecuencias (580 kHz) desaglomeran grupos de bacterias sin causar disrupción de la membrana celular. Estos investigadores mostraron que la sonicación tiene dos efectos sobre las bacterias: inactivación y desaglomeración, dependientes de la intensidad y la frecuencia. Las bacterias mesófilas determinadas en este estudio corresponden a la cuenta aerobia total, la cual es una flora heterogénea en el alimento y por

consiguiente el efecto del tratamiento con ultrasonido es dependiente de los microorganismos susceptibles y/o resistentes presentes.

Esto explica que el tratamiento con ultrasonido no haya sido efectivo en el control de bacterias mesófilas en cubos de 3 cm³, y que en cubos de 5 cm³ se hayan incrementado los conteos de este grupo de bacterias, sugiriendo que el tratamiento con ultrasonido produjo la extracción de componentes del alimento que podrían ser utilizados por las bacterias mesófilas, contribuyendo a su multiplicación durante el almacenamiento (Vilkhu *et al.*, 2008; Piñon *et al.*, 2018). Es bien conocido que la sensibilidad de las bacterias a las ondas ultrasónicas también es dependiente de las diferencias estructurales entre microorganismos. Las bacterias Gram-negativas poseen una doble membrana celular lipídica (una externa y otra citoplasmática) con una fina capa de peptidoglicano entre ellas, haciéndolas más susceptibles al tratamiento con ultrasonido. Las Gram-positivas presentan una sola membrana lipídica con una pared peptidoglicano mucho más gruesa, haciéndolas más resistentes a las ondas ultrasónicas (Piyasena *et al.*, 2003).

Para las bacterias psicrófilas (Gráfica 8), el tratamiento de marinado con sonda 100% incrementó significativamente los conteos de este grupo de bacterias (P = 0.002) en los cubos de 3 cm³. En los demás tratamientos los conteos disminuyeron significativamente hasta en 2 log₁₀ aproximadamente (Gráfica 8). En los cubos de 5 cm³ el marinado por inmersión redujo completamente los conteos de bacterias psicrófilas (P < 0.0001). En los tratamientos de marinado asistido por USAI los conteos de este grupo de bacterias fueron relativamente altos, particularmente



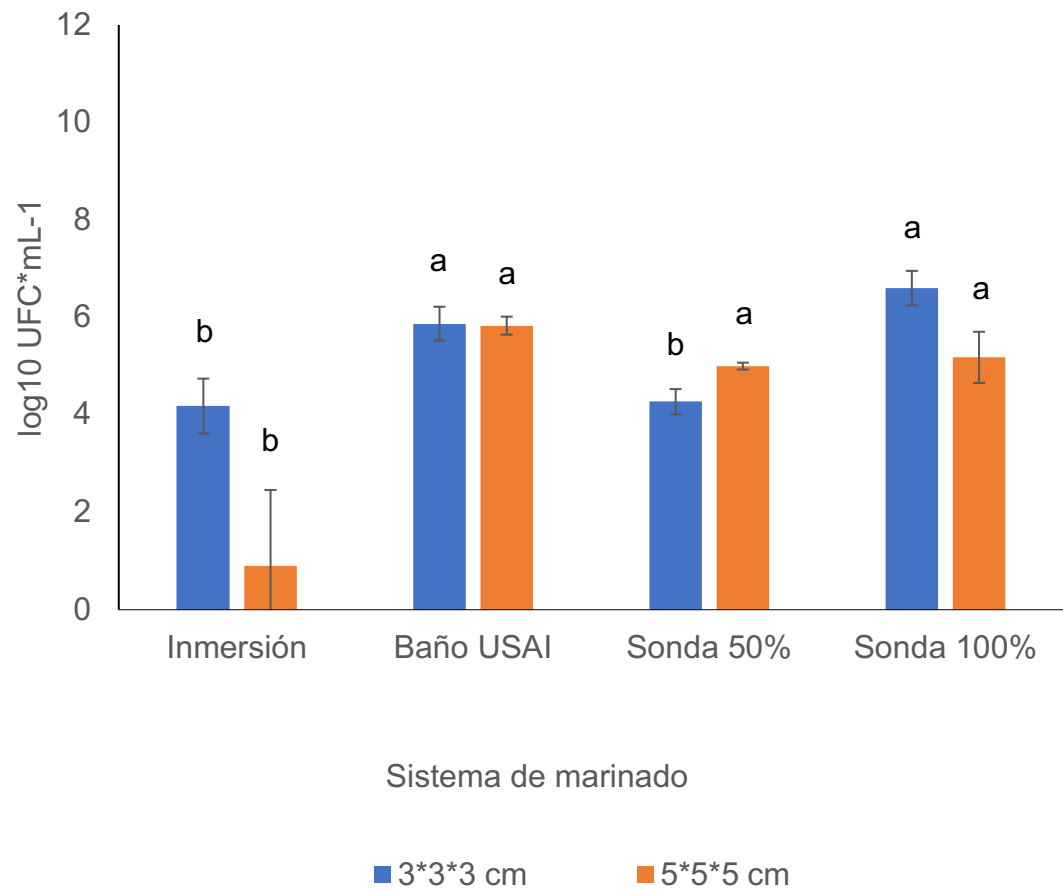
Gráfica 8. Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias psicrófilas del m. *Longissimus dorsi* porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm³.

en el sistema de sonda 50% (10.42 log₁₀ UFC/mL después de 7 días de almacenamiento a 4 °C).

Estos resultados son semejantes a los obtenidos por Carrillo-Lopez *et al.* (2019), quienes reportaron aumentos significativos en los conteos de bacterias psicrófilas en *Longissimus dorsi* tratado con ultrasonido después de 7 días de almacenamiento a 4 °C cuando se utilizaron intensidades de 16 y 90 W*cm⁻².

Contrariamente Caraveo *et al.* (2015) observaron una disminución significativa en bacterias psicrófilas después de 10 d de almacenamiento en *Semitendinosus* bovino tratado con ultrasonido. El incremento en el conteo de este grupo de bacterias se debe al almacenamiento de la carne, ya que este grupo de microorganismos crecen bajo condiciones de refrigeración. Es por esto que Piñon *et al.* (2012) observaron una disminución significativa en el conteo de bacterias psicrófilas de carne de pollo inmediatamente después del tratamiento con ultrasonido. Sin embargo, los conteos se incrementaron significativamente después del almacenamiento por 7 días a 4 °C.

Las bacterias coliformes se incrementaron significativamente en los tratamientos de marinado asistido con USAI (Gráfica 9), tanto en cubos de 3 como de 5 cm³ (P = 0.002 y P = 0.0003, respectivamente). Los tratamientos de inmersión y de sonda 50% presentaron los conteos más bajos de bacterias coliformes (4.18 y 4.29 log₁₀ UFC/mL, respectivamente) en los cubos de 3 cm³. Mientras que, en el sistema de sonda 100% los conteos de este grupo de bacterias se incrementaron hasta 6.6 log₁₀. Para los cubos de 5 cm³ el marinado por inmersión redujo hasta



Gráfica 9. Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias coliformes del m. *Longissimus dorsi* porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm³.

en cuatro unidades logarítmicas los conteos de bacterias coliformes en el músculo (desde 5-5.83 hasta 0.9 log₁₀). Por lo que el USAI como tecnología asistida al marinado no constituye un método apropiado para el control de este grupo de bacterias.

Las bacterias coliformes se incrementaron significativamente en los tratamientos de marinado asistido con USAI (Gráfica 9), tanto en cubos de 3 como como de 5 cm³ (P = 0.002 y P = 0.0003, respectivamente). Los tratamientos de inmersión y de sonda 50% presentaron los conteos más bajos de bacterias coliformes (4.18 y 4.29 log₁₀ UFC/mL, respectivamente) en los cubos de 3 cm³. Mientras que, en el sistema de sonda 100% los conteos de este grupo de bacterias se incrementaron hasta 6.6 log₁₀. Para los cubos de 5 cm³ el marinado por inmersión redujo hasta en cuatro unidades logarítmicas los conteos de bacterias coliformes en el músculo (desde 5-5.83 hasta 0.9 log₁₀). Por lo que el USAI como tecnología asistida al marinado no constituye un método apropiado para el control de este grupo de bacterias.

El grupo coliforme es indicador de materia fecal, sin embargo en alimentos que han recibido tratamiento térmico son indicadores de malas prácticas sanitarias (Kornacki & Johnson, 2001). Las bacterias de este grupo se encuentran en el intestino de humanos y animales de sangre caliente, pero también se encuentran en la naturaleza y se introducen en el medio ambiente por heces, sin embargo existen muchos coliformes de vida libre, por lo que su presencia no necesariamente indica malas prácticas higiénicas, a menos que se determinen los conteos de coliformes fecales (Kornacki & Johnson, 2001). Contrariamente a lo observado en

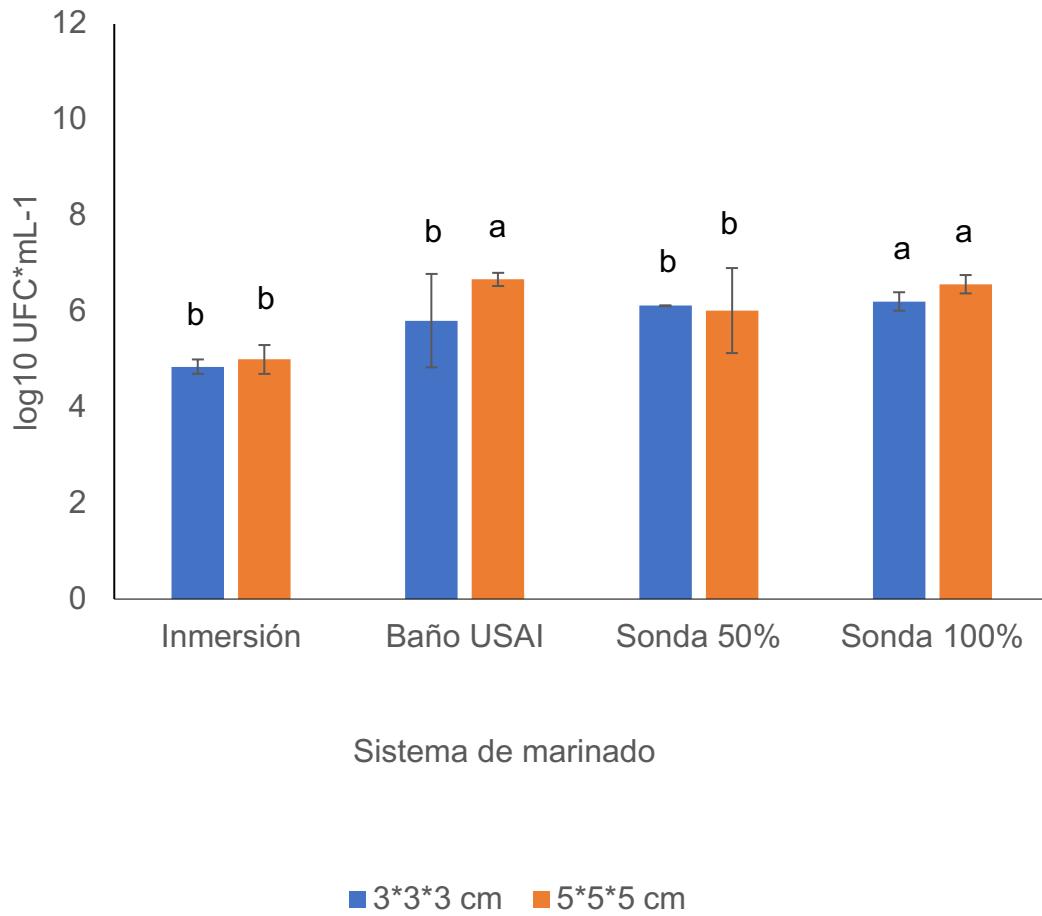
esta investigación, Carrillo-Lopez *et al.* (2019) y Caraveo *et al.* (2015) observaron una disminución significativa en los conteos de bacterias coliformes en músculos *Longissimus dorsi* y *Semitendinosus* bovinos tratados con ultrasonido después de 7 d y 10 días de almacenamiento a 4 °C, respectivamente. Haughton *et al.* (2012) reportaron enterobacterias no viables en piel de pollo tratada con ultrasonido de alta intensidad en sistema de sonda. Mientras que la sonicación de baja intensidad en sistema de baño no redujo los conteos de *Enterobacteriaceae*, familia a la que pertenecen los géneros del grupo coliforme.

En el curado en salmuera líquida y carne de res, Kang *et al.* (2017) encontraron que tiempos de 120 min constituyen el tratamiento óptimo de ultrasonicación para la reducción bacteriana de *Escherichia coli* O157:H7. Este microorganismo patógeno coliforme produce colitis hemorrágica por consumo de carne sin cocinar o poco cocinada. La producción de peróxido de hidrógeno en salmuera durante el ultrasonido causa la inactivación microbiana durante el proceso de curado. Esto da lugar a la formación de fragmentos celulares al destruir la integridad de la membrana celular. Tiempos mayores de tratamiento con ultrasonido deberían producir una disminución de bacterias coliformes en carne de res bajo las condiciones experimentales de esta investigación. Piñon *et al.* (2018) tampoco encontraron reducciones significativas en los conteos de *Escherichia coli* de carne de pollo por efecto del tiempo de ultrasonicación (30 y 50 min), tipo de empaque (aeróbico y anaeróbico) ni antes del tratamiento con ultrasonido ni después de 7 días de almacenamiento a 4 °C.

En lo que respecta a las bacterias acidolácticas (BAL), únicamente el sistema de sonda 100% incrementó significativamente a las BAL en los cubos de 3 cm³ (P = 0.0372), mientras que los demás tratamientos presentaron conteos estadísticamente iguales (Gráfica 10). Para los cubos de 5 cm³, los tratamientos de sonda 50% y marinado por inmersión redujeron significativamente los conteos de BAL (P = 0.01), mientras que los sistemas de sonda 100% y baño ultrasónico no fueron eficientes para el control de este grupo de bacterias.

De acuerdo con Piñon *et al.* (2018), el periodo de almacenamiento durante 7 d a 4 °C incrementa significativamente los conteos de BAL en carne de pollo tratada con ultrasonido, mientras que el tiempo de ultrasonido (30 y 50 min) y el tipo de empaque (aeróbico y anaeróbico) no tienen ningún efecto en la reducción de BAL.

Estos resultados son semejantes a los obtenidos en esta investigación, ya que el tratamiento con ultrasonido en *Longissimus dorsi* bovino (sonda o baño) no redujo el contenido de BAL, en comparación con el marinado por tradicional por inmersión. El incremento significativo en los conteos de BAL en cubos de 3 cm³ tratados con sistema de sonda (amplitud 100%) y en cubos de 5 cm³ tratados con sistema de baño y sonda (amplitud 100%) durante el almacenamiento a 4 °C puede ser positivo porque este grupo de bacterias produce compuestos antimicrobianos que conservan los alimentos durante la refrigeración. A este respecto, Díaz-Ruíz *et al.* (2012) reportaron que la cepa EC52 productora de plantaricina de *Lactobacillus plantarum* reduce los niveles de *Listeria monocytogenes* e inhibe la proliferación de *Escherichia coli*, por lo que puede adicionarse como cultivo protector en mezclas de carne para fabricar salchichas fermentadas. Las BAL son bien conocidas por su



Gráfica 10. Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias acidolácticas del m. *Longissimus dorsi* porcino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de marinado en músculos de 3 y 5 cm³.

capacidad para producir inhibidores y productos finales del metabolismo como ácidos orgánicos, reuterina, reuter ciclina, péptidos antimicóticos y bacteriocinas. El incremento significativo en los conteos de BAL puede deberse a la extracción y liberación de nutrientes y agua a partir del alimento (Vilkhu *et al.*, 2008), como ocurre en el desarrollo de cultivos iniciadores (BAL) en productos lácteos como el yogur (Mason & Lorimer, 2002).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El ultrasonido de alta intensidad (UAI) es una tecnología promisorio para el marinado de carne de cerdo porque aumenta la transferencia de solutos (NaCl) y el peso fresco durante el almacenamiento, y produce una apariencia más roja y brillante en el músculo. En futuras investigaciones se deben diseñar experimentos que contemplen el comportamiento de la capacidad de retención de agua (CRA) en el tiempo, con la finalidad de relacionar esta variable con las lecturas de peso fresco. El UAI no constituye una tecnología de descontaminación eficiente durante el almacenamiento. Sin embargo, puede traer beneficios para la conservación de la carne durante el almacenamiento en refrigeración. El uso del ultrasonido como tecnología asistida al marinado debe considerar al tamaño del músculo como un parámetro de control antes del escalamiento a nivel industrial porque el sistema ultrasónico afecta significativamente las variables de calidad en función del tamaño del músculo.

LITERATURA CITADA

- Alarcon-Rojo A.D., H. Janacua, J.C. Rodrigez, L. Paniwnyk & T.J. Mason. 2015. Power ultrasound in meat processing. *Meat Science* 107:86-93.
- AMSA, Meat Colour Measurement Guidelines, American Meat Science Association (Ed.), Champaign, Illinois, USA, 2012.
- AOAC International. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC International, Arlington, VA, USA, 17 edition.
- Caraveo O, A.D. Alarcon-Rojo, A. Renteria, E. Santellano & 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. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6979>.
- Cárcel J.A., J. Benedito, J. Bon & A. Mulet. 2007. High intensity ultrasound effects on meat brining. *Meat Science* 76(4):611-619.
- Carrillo-Lopez L.M., M. Huerta-Jimenez, I.A. Garcia-Galicia & A.D. Alarcon-Rojo. 2019. Bacterial control and structural and physicochemical modification of bovine *Longissimus dorsi* by ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry* 58:104608. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.025>.
- Chang H.-J., Q. Wang, C.-H. Tang, & G.-H. Zhou. 2015. Effects of ultrasound treatment on connective tissue collagen and meat quality of beef semitendinosus muscle. *Journal of Food Quality* 38(4):256-267.
- Chang H.-J., X.-L. Xu, G.-H. Zhou, C.B. Li & M. Huang. 2012. Effects of Characteristics Changes of Collagen on Meat Physicochemical Properties of Beef Semitendinosus Muscle during Ultrasonic Processing. *Food and Bioprocess Technology* 5:285–297.
- Contreras-Lopez G., A. Carnero-Hernandez, M. Huerta-Jimenez, A.D. Alarcon-Rojo, I. Garcia-Galicia & L.M. Carrillo-López. 2020. High-intensity ultrasound applied on cured pork: sensory and physicochemical characteristics. *Food Sci. Nutr.* 8(2):786-795.
- Díaz-Ruiz G., N. Omar, H. Abriouel, M. Cañamero & A. Gálvez. 2012. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* by bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* ec52 in a meat sausage model system. *African Journal of Microbiology Research* 6(6):1103–1108.
- Dolatowski Z. & D. Stasiak. 2002. Bacterial contamination of meat and meat products after ultrasound treatment. *ACTA Scientiarum Polonorum* 1:55-65.
- FDA, Bacteriological analytical manual on line, eighth ed., AOAC International, Arlington, USA, 2004.
- Gómez-Salazar J.A., D.A. Ochoa-Montes, A. Cerón-García, C. Ozuna & M.E. Sosa-Morales. 2018. Effect of Acid marination assisted by power ultrasound on the

- quality of rabbit meat. *Journal of Food Quality* 2018 (article 5754930):6 pages. <https://doi.org/10.1155/2018/5754930>
- González-González L., L. Luna-Rodríguez, L.M. Carrillo-López, A.D. Alarcón-Rojo, I. García-Galicia & R. Reyes-Villagrana. 2017. Ultrasound as an Alternative to Conventional Marination: Acceptability and Mass Transfer. *Journal of Food Quality* 2017(8675720):8 pages. <https://doi.org/10.1155/2017/8675720>.
- Haughton P.N., J.G. Lyng, D.J. Morgan, D. Cronin, F. Noci, S. Fanning & P. Whyte. 2012. An evaluation of the potential of high-intensity ultrasound for improving the microbial safety of poultry, *Food Bioprocess Technol.* 5:992–998. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0372-y>.
- Inguglia E.S., C.M. Burgess, J.P. Kerry & B.K. Tiwari. 2019. Ultrasound-Assisted Marination: Role of Frequencies and Treatment Time on the Quality of Sodium-Reduced Poultry Meat. *Foods (Basel, Switzerland)* 8(10):473. doi:10.3390/foods8100473.
- Jayasooriya, S.D., P.J. Torley, B.R. D'Arcy & B.R. Bhandari. 2007. Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine semitendinosus and longissimus muscles. *Meat Science* 75:628–639. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.09.010>.
- Joyce, E., A. Al-Hashimi & T.J. Mason. 2011. Assessing the effect of different ultrasonic frequencies on bacterial viability using flow cytometry. *Journal of Applied Microbiology* 110(4):862-870. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.04923.x>. PMID:21324052.
- Kang D., A. Wang, G. Zhou, W. Zhang, S. Xu & G. Guo. 2016. Power ultrasonic on mass transport of beef: effects of ultrasound intensity and NaCl concentration. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 35:36-44.
- Kang D.C., Y.H. Zou, Y.P. Cheng, L.J. Xing, G.H. Zhou & W.G. Zhang. 2016. Effects of power ultrasound on oxidation and structure of beef proteins during curing processing. *Ultrasonics Sonochemistry* 33:47-53.
- Kang D., Y. Jiang, L. Xing, G. Zhou & W. Zhang. 2017. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Bacillus cereus* by power ultrasound during the curing processing in brining liquid and beef. *Food Research International* 102:717-727. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.062>
- Kornacki J.L. & Johnson J.L. (2001) "Enterobacteriaceae, Coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators". In: *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4th ed. Downs F.P. & Ito K. (Eds.) APHA. Washington. 69-82.
- Mason T. & J. Lorimer. 2002. *Applied Sonochemistry: The Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing*, Willey-VCH, Weinheim, Alemania.
- Maturin L.J. & Peeler, J.T. Aerobic plate count. In *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*, 8th ed. Available online: <https://www.fda.gov/food/laboratory->

methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam (accessed on 14 August 2019).

- McDonnell C.K., J.G. Lyng, J.M. Arimi & P. Allen. 2014. The acceleration of pork curing by power ultrasound: A pilot-scale production. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 26:191-198.
- McDonnell C.K., P. Allen, C. Morin & J.G. Lyng. 2014. The effect of ultrasonic salting on protein and water-protein interactions in meat. *Food Chemistry* 15(147):245-251.
- McDonnell C.K., J.G. Lyng & P. Allen. 2014. The use of power ultrasound for accelerating the curing of pork. *Meat Science* 98(2):142-149.
- Piñón M, L. Paniwnyk, A. Alarcon-Rojo, A. Renteria, V. Nevarez, H. Janacua-Vidales & T. Mason. 2012. Power ultrasound effect on poultry meat microbial flora, in: 13th Meeting of the European Society of Sonochemistry, Lviv, Ukraine, 2012:pp.182–183.
- Piñón M.I., A.D. Alarcon-Rojo, A.L. Renteria & L.M. Carrillo-Lopez. 2018. Microbiological properties of poultry breast meat treated with high-intensity ultrasound. *Ultrasonics* 2018:105680. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2018.01.001>.
- Piyasena P., E. Mohareb & R.C. Mckellar. 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology* 87(3):207-216. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00075-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00075-8). PMID:14527793.
- Pohlman F.W., M.E. Dikeman & 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 Science* 46(1):89-100.
- Siró I., C. Vén, C. Balla, G. Jonás, I. Zeke & L. Friedrich. 2009. Application of an ultrasonic assisted curing technique for improving the diffusion of sodium chloride in porcine meat. *Journal of Food Engineering* 91(2):353-362.
- Tsai, T., & Ockerman, H. (1981). Water binding measurement of meat. *Journal of Food Science*, 46(3), 697-701.
- Turantas F., G.B. Kilic & B. Kilic. 2015. Ultrasound in the meat industry: General applications and decontamination efficiency. *International Journal of Food Microbiology* 198:59-69.
- Turhan S.,F. Saricaoglu & F. Oz. 2013. The Effect of Ultrasonic Marinating on the Transport of Acetic Acid and Salt in Anchovy Marinades. *Food Science and Technology Research* 19(5):849-853. 10.3136/fstr.19.849.
- Vera A., V. Rigobello & Y. Demarignya. 2009. Comparative study of culture media used for sourdough lactobacilli. *Food Microbiol.* 26:728-733.

- Smith D.P. 2011. Effect of ultrasonic marination on broiler breast meat quality and Salmonella contamination. *International Journal of Poultry Science* 10:757-759.
- Stadnik J., Z.J. Dolatowski, & H.M. Baranowska. 2008. Effects of ultrasound treatment on water holding properties and microstructure of beef (*m. semimembranosus*) during ageing. *LWT Food Sci. Technol.* 10:2151–2158.
- Vilkhu K., R. Mawson, L. Simons & D. Bates. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry. a review, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9(2):161-169.
- Yusop S.M., M.G. O’Sullivan & J.P. Kerry. 2011. *Marinating and Enhancement of the Nutritional Content of Processed Meat Products Processed Meats*. Volume 17. Woodhead Publishing; Cambridge, UK:421-449.

**ESTUDIO II. EFECTO DEL SISTEMA DE APLICACIÓN Y TIEMPO DE
ULTRASONIDO EN LA CALIDAD DE *LONGISSIMUS DORSI* BOVINO**

POR:

Bianka Yhalí Cruz Garibaldi¹, Luis Manuel Carrillo López^{1,2}, Alma Delia Alarcón-Rojo¹, Iván Adrián García Galicia¹, Eduardo Santellano Estrada¹, Mariana Huerta Jiménez^{1,2}

¹ Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua

² Programa Cátedras CONACYT, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México.

RESUMEN

EFFECTO DE APLICACIÓN Y TIEMPO DE ULTRASONIDO EN LA CALIDAD DE *LONGISSIMUS DORSI* BOVINO

POR:

M. V. Z. BIANKA YHALÍ CRUZ GARIBALDI

Maestría en Ciencias en Producción Animal

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: Dr. Luis Manuel Carrillo López

El ultrasonido de alta intensidad es una tecnología emergente con posibilidad de escalar a nivel industrial, siempre que se establezcan las condiciones ideales (intensidad, frecuencia, tiempo, características de muestra y condiciones ambientales) para su implementación. El objetivo de esta investigación fue el evaluar el efecto de USAI sobre la microestructura, la calidad fisicoquímica y microbiológica del m. *Longissimus dorsi* bovino utilizando dos sistemas de aplicación de ultrasonido y dos tiempos de tratamiento (25 y 50 min). Las muestras no fueron volteadas para evaluar el efecto del USAI en la microestructura de la parte no expuesta a las ondas sónicas. Los resultados mostraron una disminución significativa en el esfuerzo de corte ($P= 0.0109$) y una disminución significativa en la capacidad de retención de agua (CRA) en muestras tratadas con USAI (tanto sonda como baño). La luminosidad ($P = 0.0239$) se incrementó significativamente en muestras tratadas en sistema de baño. Las bacterias mesófilas se incrementaron significativamente en muestras tratadas con USAI independientemente del sistema

de aplicación de USAI utilizado ($P = 0.0088$). Mientras que los conteos de bacterias psicrófilas, coliformes y acidolácticas no se modificaron con la aplicación de USAI. El USAI modifica la separación interfibrilar en el músculo, produciendo mayor daño en la superficie del músculo expuesta a los emisores de las ondas sónicas.

ABSTRACT

BY:

HIGH INTENSITY ULTRASOUND (HIU) ON THE QUALITY OF BOVINE

Longissimus dorsi

BIANKA YHALÍ CRUZ GARIBALDI

This research evaluated the effect of high-intensity ultrasound (HIU) on microstructure, physicochemical and microbiological quality in bovine *longissimus dorsi* using two ultrasound systems and two times (25 and 50 min). The samples were not turned to evaluate the effect in the part not exposed to sonic waves. The results showed a significant decrease in shear force ($P= 0.0109$) and a significant decrease in water holding capacity (WHC) in samples treated using USAI (probe and bath). Lightness ($P = 0.0239$) increased significantly in samples treated in bath system. Mesophilic bacteria were significantly increased in samples treated using HIU, independently of system ($P = 0.0088$). While the counts of psychrophilic, coliform and lactic acid bacteria did not modify with HIU. HIU modifies interfibrillar spaces in the muscle, producing greater damage in the surface of the muscle exposed to the emitters of the sonic waves.

INTRODUCCIÓN

La carne es un producto de origen animal cuyo consumo es apreciado a nivel mundial, por lo que existe una alta demanda en el mercado. La aceptación de este producto depende en primera instancia de la apariencia. Sin embargo el color y la terneza son los principales parámetros de aceptación considerados por el consumidor (Got *et al.*, 1999; Jayasooriya *et al.*, 2007; Alarcon-Rojo *et al.*, 2015; Peña-Gonzalez *et al.*, 2017; Alarcon-Rojo *et al.*, 2019). El principal factor que afecta significativamente la apariencia de la carne fresca es la capacidad de retención de agua, característica de la cual dependen la textura, terneza y jugosidad (Pearce *et al.*, 2011; Warner, 2017).

Para mejorar la calidad de la carne y satisfacer la demanda se han utilizado tradicionalmente métodos térmicos. Sin embargo es bien sabido que disminuyen el valor nutricional de los alimentos. Otra característica de calidad es la inocuidad alimentaria. Esta característica ha sido garantizada mediante métodos convencionales como la deshidratación, cuyo principio de conservación se basa en disminución en la actividad de agua y mediante el lavado antimicrobiano con ácidos orgánicos (Turantaş *et al.*, 2015; Piñón *et al.*, 2018). Sin embargo, estos métodos pueden causar modificaciones en la apariencia de algunos alimentos como la carne, así como cambios físicos y químicos indeseables, por lo que en los últimos años se han desarrollado técnicas emergentes no invasivas y no dañinas. Una de estas tecnologías es el uso de ultrasonido de alta intensidad (USAI) (Jayasooriya *et al.*, 2007; Alarcon-Rojo *et al.*, 2015; Piñón *et al.*, 2018; Alarcon-Rojo *et al.*, 2019), el cual se define como una tecnología cuyo principio radica en el fenómeno de cavitación, que consiste en la formación de burbujas que crecen e implosionan causando daños

a la estructura muscular y afectando las propiedades fisicoquímicas como la dureza sin modificar negativamente la apariencia (Kang *et al.*, 2016). La eficacia de USAI dependen de a) la intensidad y frecuencia, b) las propiedades de la carne y c) las condiciones del ambiente (Jayasooriya *et al.*, 2007).

Muchos investigadores han reportado los efectos y beneficios de la aplicación del USAI en carne (Knorr *et al.*, 2004; Peña-Gonzalez *et al.*, 2017). A este respecto, Jayasooriya *et al.* (2007) encontraron que el USAI puede proveer mejores características en la terneza de la carne causando la disrupción de las estructuras musculares, disminuyendo la dureza miofibrilar y el colágeno. Peña-Gonzalez *et al.* (2017) reportan valores reducidos significativos en el esfuerzo de corte ($P < 0.0001$) en cortes de *Longissimus dorsi* tratados durante 30 min/lado mediante la aplicación de ultrasonido, en comparación con los controles sin USAI. Pohlman *et al.* (1997) reportaron un aumento en la capacidad de retención de agua y una disminución en el esfuerzo de corte de *Longissimus thoracis* almacenado durante 14 d a 2 °C; estos investigadores también encontraron una disminución significativa en las pérdidas por cocción y un menor contenido de colágeno soluble utilizando 1000 W y 20 kHz durante 1, 5 y 10 min.

A pesar de los esfuerzos por escalar la tecnología del USAI a nivel industrial, aún es necesario realizar estudios que permitan estandarizar las variables que afectan la eficiencia del proceso. Por esto, en esta investigación se diseñó un experimento factorial para evaluar el efecto del sistema de USAI (baño y sonda) y el tiempo de tratamiento (25 y 50 min), a fin de aportar conocimiento nuevo que contribuya a estandarizar los parámetros que influyen en la eficacia de esta tecnología promisoriosa. La relevancia de esta investigación radica en que el músculo

no fue girado durante el tratamiento, a fin de que los estudios de microscopía permitan evaluar si las ondas sónicas afectan por igual la parte expuesta y no expuesta a la zona emisora.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del Sitio de Estudio

Este estudio se llevó a cabo en los laboratorios de Bioquímica y de Nutrición Animal de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH), Chihuahua. Para los estudios microestructurales, se realizó una estancia de investigación en la Unidad de Microscopía Electrónica del Colegio de Postgraduados (COLPOS) campus Montecillo, localizado en Texcoco, estado de México.

Procedencia de Muestras y Asignación de Tratamientos

Se adquirieron seis lomos de *Longissimus dorsi lumborum* (cortes New York), de tres hembras raza Beef Master de 15, 22 y 23 meses de edad, con un peso promedio de 450 kg, en cortes finos El Triunfo Linaje Selecto ubicado en Chihuahua, México. Las muestras se recibieron a una temperatura de -12 °C y fueron descongeladas a una temperatura de 4 °C durante 24 hrs. De los seis lomos se obtuvieron 24 cortes (cuatro repeticiones por tratamiento) de una pulgada de grosor (2.54 cm), se retiró el tejido conectivo y grasa visible. Inmediatamente después, los cortes fueron empacados al vacío en bolsas de polietileno con un grosor de 50 µm.

Diseño experimental

El diseño experimental utilizado fue un diseño factorial completamente al azar. Los 24 cortes fueron asignados aleatoriamente a los seis tratamientos (Cuadro 4) e inmediatamente se empacaron al vacío (calibre de 50 µm). Se establecieron dos factores: el factor ultrasonido con tres niveles (baño, sonda y control) y el factor tiempo con dos niveles (25 y 50 min). Se realizaron cuatro repeticiones por

tratamiento. Los cortes estuvieron en contacto directo con las ondas ultrasónicas por un solo lado, es decir, las muestras no fueron volteadas durante el tratamiento con USAI.

Los cortes empacados al vacío fueron tratados con un sistema de baño ultrasónico Elmasonic® S60H (37 kHz, 550 W, 90 W/cm⁻²) y con un sistema de sonda Hielscher® UP400St (400 W, 24 kHz), utilizando un pulso del 100 % y una amplitud de 100 %. El grupo control consistió en cortes del m. *Longissimus dorsi* no tratados con USAI y mantenidos a 4 °C para simular la temperatura dentro del medio de acoplamiento en las muestras tratadas con ultrasonido. Para el control de temperatura en los sistemas de USAI se utilizaron hielos fabricados con agua destilada. Posterior al tratamiento, las muestras fueron almacenadas durante 7 días a 4° C; inmediatamente después se realizaron las mediciones de las variables respuesta.

Evaluación Fisicoquímica

La toma de variables respuesta se realizó de manera ordenada, iniciando con la toma de mediciones para las pruebas no destructivas. El orden de toma de mediciones para las variables respuesta fue el siguiente: color, pH, CRA, cortes para microestructura, microbiología y esfuerzo de corte.

Color (CIEL *a*b*)

La medición del espacio de color se obtuvo de acuerdo a los parámetros de color CIEL a* b* mediante el sistema de referencia CIE (Comission Internationale Pour l'Eclairage) (Alberti et al., 2005), con un colorímetro Konica Minolta®, CR 400, USA. La medición se llevó a cabo de acuerdo a la metodología expuesta en el manual de la AMSA (AMSA, 2012). Previamente se expuso la muestra al medio

Cuadro 4. Diseño experimental factorial y asignación de tratamientos en 24 cortes de *Longissimus dorsi* bovino. Factores: sistema ultrasónico y tiempo de tratamiento, en tres y dos niveles, respectivamente

Tratamiento	Sistema Ultrasónico	Tiempo
T1	Sonda ultrasónica Amplitud 100% Pulso 100%	25 min
T2	Sonda ultrasónica Amplitud 100% Pulso 100%	50 min
T3	Baño ultrasónico 37 kHz 90 W/cm ²	25 min
T4	Baño ultrasónico 37 kHz 90 W/cm ²	50 min
T5	Control	25 min
T6	Control	50 min

ambiente para permitir la oxigenación de la mioglobina. Se realizaron tres lecturas por muestra y se registraron los valores L^* , a^* , b^* . Se calcularon el ángulo hue (H°) y el croma (C^*) por medio de las siguientes expresiones: C^* (croma o saturación) = $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, H° (ángulo hue) = $\arctan(b^*/a^*)$.

pH

El pH fue evaluado con un medidor digital de pH para carne y embutidos (HANNA® instruments, modelo HI 99163), el cual fue calibrado previamente. La toma de lecturas se realizó introduciendo el electrodo directamente en el corte a una profundidad de 1.27 cm, de acuerdo con la metodología de Honikel (1998). Se realizaron lecturas en tres puntos del corte y se obtuvo el promedio.

Capacidad de Retención de Agua (CRA)

La CRA fue determinada utilizando la técnica de presión de Tsai y Ockerman (1981). Se utilizó una balanza analítica y 0.3 g de muestra. Las muestras fueron colocadas en un papel filtro Whatman® No. 4. Y se pesaron antes (P_a) y después (P_p) de someterse a un peso de 30 kg (tres placas de metacrilato de 10 kg cada una) durante 5 min.

La capacidad de retención de agua fue calculada mediante la siguiente ecuación:

$$CRA(\%) = \frac{P_a - P_p}{P_p} \times 100\%$$

El porcentaje de agua libre se calculó utilizando la ecuación:

$$\% \text{ de Agua libre} = (\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{peso de la muestra} \times 100.$$

Análisis Microestructural

Las muestras de carne se cortaron a 2-5 mm de grosor y se fijaron en glutaraldehído al 2.5% en amortiguador de fosfatos Sorensen pH 7.2. Se realizó una postfijación con tetróxido de osmio al 1%. Posteriormente los cortes fueron deshidratados en una serie gradual de etanol (30-100%). Para microscopía electrónica de barrido (SEM) las muestras se secaron a punto crítico con CO₂ y se montaron en portamuestras de aluminio utilizando cinta de cobre y entonces se recubrieron con una capa de oro (30 nm) para permitir la visualización de la superficie en sección transversal.

Las micrografías de SEM de las muestras fueron obtenidas con en un microscopio electrónico de barrido SEM JSM-6390 (Jeol, Tokyo, Japan).

Evaluación Microbiológica

El conteo microbiológico se llevó a cabo mediante la técnica de conteo en placa (NOM-092-SSA1-1994) para bacterias psicrófilas, mesófilas, coliformes totales y bacterias ácido lácticas (BAL). Se inocularon 1000 µl de dilución por caja mediante la técnica de extensión en placas de agar estándar (Luna *et al.*, 2015).

Para la determinación de bacterias mesófilas y psicrófilas se utilizó agar nutritivo (CM0325, Nutritive agar, Oxoid); la incubación aeróbica se llevó a cabo a 35 °C ± 2 °C durante 48 h y 168 h a 4 °C, respectivamente. En el conteo de coliformes totales se utilizó medio de cultivo agar rojo violeta bilis glucosa (CM0485, Violet red bile glucose agar, Oxoid), incubando a 35 °C ± 2 °C durante 48 h. Para el conteo de BAL se utilizó medio de cultivo agar de Man, Rogosa y Sharpe (MRS, CM0361; Oxoid) y la incubación se realizó a 30 °C ± 2 °C durante 120 h. Para

favorecer las condiciones de anaerobiosis se utilizó el método tradicional utilizando una vela que agotara el oxígeno en el medio.

Debido a la escasez de exudado en el empaque post almacenamiento (7 d a 4 °C) se tomó 1 g de muestra y se colocó en bolsas estériles (Lab Plas, 4" x 6") para homogeneizar en el Stomacher® 80 (Seward) durante por 60 s, utilizando 9 mL de agua peptonada al 0.1 % (0.1 g/L de peptona).

El cálculo de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) se obtuvo multiplicando por el factor de dilución y posteriormente se transformaron a logaritmo base 10 (\log_{10}).

Esfuerzo de corte

El análisis de esfuerzo de corte se realizó mediante la técnica descrita por la AMSA (2015). Se cocinaron las muestras en planchas eléctricas George Foreman® (USA) hasta alcanzar una temperatura interna de 71 °C \pm 2 °C. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente e inmediatamente fueron refrigeradas a 4 °C durante 24 h. Por cada corte de una pulgada se obtuvieron siete cilindros cuyo diámetro fue de 10 mm. Los cilindros se obtuvieron utilizando un sacabocados manual y se produjeron un total de 168 cilindros a partir de las 24 muestras. Durante la obtención de los cilindros se consideró la orientación longitudinal y paralela de las fibras musculares.

Para la toma de lecturas se utilizó un texturómetro TA.XTplus (texture analyser). Los cilindros fueron colocados de manera transversal y cortados mediante una cuchilla Warner Bratzler a una velocidad de 100 mm/min y una altura de 30 mm. El pico máximo de fuerza (expresado en N) se obtuvo mediante el software Texture Exponent (Stable Micro Systems Ltd., UK).

Análisis Estadístico

El análisis de datos de las variables respuesta se llevó a cabo mediante el paquete estadístico SAS v. 9.0. Se realizó análisis de varianza (ANDEVA) y prueba de comparación de medias de Tukey para realizar la comparación entre medias ($P < 0.05$). En el caso de las variables microbiológicas, antes de ingresar los datos al paquete estadístico las UFC/mL fueron transformadas logarítmicamente a log base 10.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Color CIE L*a*b*

Los resultados mostraron diferencias significativas en la luminosidad del m. *Longissimus dorsi* bovino (Cuadro 5) por efecto del factor sistema de USAI (P = 0.0239). Los músculos tratados en sistema de baño presentaron un incremento significativo en la luminosidad con respecto a los controles. El tiempo de tratamiento no tuvo ningún efecto en la luminosidad del músculo (P = 0.8397); la interacción entre factores tampoco resultó significativa (P = 0.9324). El consumidor basa su intención de compra en la primera impresión visual de la carne (apariencia); dado que la coordenada L* está relacionada directamente con el brillo o capacidad de reflejar el color, el incremento en L* en el sistema de baño constituye el mejor tratamiento para incrementar la apariencia visual de la carne.

En cuanto a los parámetros de color a*, b*, croma y hue, no se encontraron diferencia estadísticas para los factores evaluados (sistema de USAI y tiempo de tratamiento) ni en la interacción entre estos (P = 0.3725, P = 0.7199, P = 0.4141 y P = 0.796, respectivamente). Estos resultados son positivos porque indican que el tratamiento con USAI no modifica la tendencia al rojo (a*) ni el tono y saturación (brillo-opacidad) del músculo (Cuadro 5).

Jayasooriya *et al.* (2007) obtuvieron resultados similares al utilizar músculos *Longissimus* (lumborum y thoracis) y *Semitendinosus*; muestras de 60 x 40 x 20 mm tratadas con 12 W/cm² y 24 kHz durante 240 s y posteriormente maduradas por 8.5 d no fueron afectadas en sus parámetros a* y b*, sin embargo, después del periodo de maduración observaron un incremento significativo (P= 0.0005) en estos parámetros.

Díaz-Almanza *et al.* (2019) también obtuvieron resultados similares a los nuestros. En este caso, reportaron un incremento significativo de la coordenada L^* ($P < 0.05$) en filetes de *Longissimus lumborum* de 2.5 cm de grosor, después del tratamiento de USAI en sistema de baño (37 kHz, 90 W/cm²) a 0, 10, 20 y 40 min; L^* se incrementó significativamente conforme el tiempo de tratamiento con USAI aumentó.

Por otro lado, Caraveo *et al.* (2015) encontraron diferencia significativa ($P < 0.05$) entre el grupo control (0 min) y las muestras tratadas con ultrasonido (40 kHz, 11 W/cm²). El valor de L^* se incrementó en las muestras tratadas con USAI, sin mostrar diferencia significativa entre tiempos de exposición (60 y 90 min). Además, L^* tiende a incrementarse hasta el sexto día de almacenamiento, de manera que al décimo día disminuyeron los valores, siendo similares a los del día cero. Respecto a las coordenadas a^* y b^* , contrariamente a los resultados obtenidos en esta investigación. Caraveo *et al.* (2015) mostraron que el grupo control presentó valores significativamente más altos ($P < 0.05$) que las muestras tratadas con USAI hasta el día seis de almacenamiento. Al día ocho de almacenamiento hubo un incremento no significativo, para mantenerse constantes hasta el día diez.

Cuadro 5. Medias (\pm D.E.) de los parámetros de color L*a*b* del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C, por efecto del sistema y tiempo de USAI.

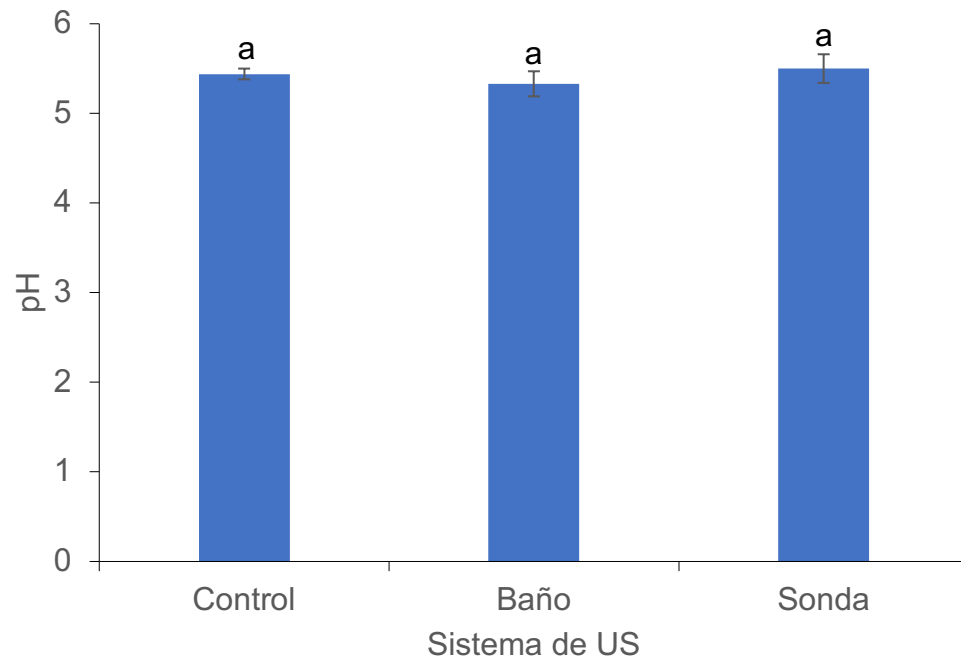
Tratamiento	CIEL*a*b*					
	Sistema de US	L*	a*	b*	Hue	Saturación
Control		37.9 \pm 1.9 ^b	19.1 \pm 1.2 ^a	8.5 \pm 1.5 ^a	23.5 \pm 2.6 ^a	20.9 \pm 1.7 ^a
Baño USAI		40.6 \pm 1.6 ^a	20.3 \pm 1.2 ^a	8.6 \pm 1.0 ^a	23.0 \pm 1.9 ^a	22.0 \pm 1.4 ^a
Sonda 100%		39.8 \pm 1.5 ^b	20.1 \pm 1.4 ^a	8.8 \pm 1.2 ^a	23.5 \pm 1.7 ^a	21.9 \pm 1.7 ^a
Tiempo de US (min)	L*	a*	b*	Hue	Saturación	
25		39.5 \pm 1.9 ^a	19.5 \pm 1.5 ^a	8.4 \pm 0.8 ^a	23.0 \pm 1.4 ^a	21.2 \pm 1.6 ^a
50		39.3 \pm 2.1 ^a	20.1 \pm 1.2 ^a	8.9 \pm 1.5 ^a	23.6 \pm 2.5 ^a	22.0 \pm 1.6 ^a
Sistema US*tiempo de US	L*	a*	b*	Hue	Saturación	
Control 25 min		38.1 \pm 1.6 ^a	18.3 \pm 0.2 ⁹	7.9 \pm 0.4 ^a	22.8 \pm 1.1 ^a	19.9 \pm 1.1 ^a
Control 50 min		37.7 \pm 2.3 ^a	19.8 \pm 1.1 ^a	9.0 \pm 2.1 ^a	24.1 \pm 3.7 ^a	21.8 \pm 1.8 ^a
Baño 25 min		40.7 \pm 1.3 ^a	20.4 \pm 1.4 ^a	8.5 \pm 0.9 ^a	22.7 \pm 1.3 ^a	22.1 \pm 1.6 ^a
Baño 50 min		40.4 \pm 2.1 ^a	20.1 \pm 1.1 ^a	8.7 \pm 1.3 ^a	23.4 \pm 2.5 ^a	21.9 \pm 1.4 ^a
Sonda 25 min		39.6 \pm 1.9 ^a	19.9 \pm 1.3 ^a	8.7 \pm 1.1 ^a	23.6 \pm 2.1 ^a	21.7 \pm 1.5 ^a
Sonda 50 min		39.9 \pm 1.2 ^a	20.3 \pm 1.6 ^a	8.8 \pm 1.4 ^a	23.4 \pm 1.7 ^a	22.2 \pm 2.0 ^a

pH

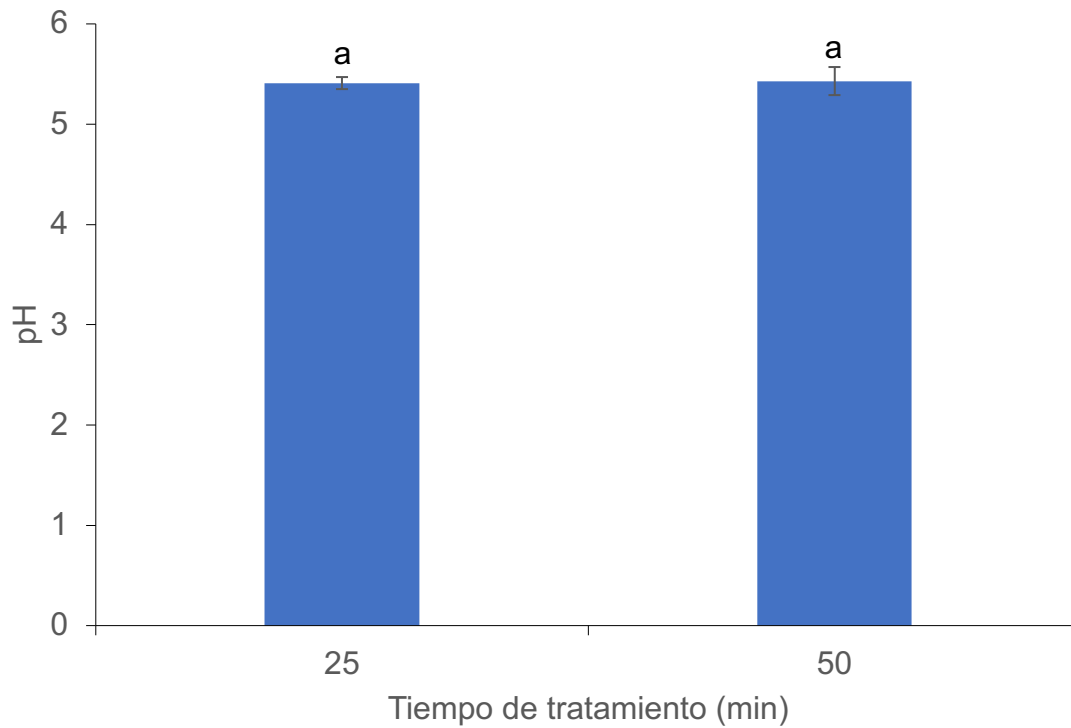
Los valores de pH obtenidos se encuentran de los valores normales para el m. *Longissimus dorsi* bovino. No se encontraron diferencias significativas en el pH del m. *Longissimus dorsi* bovino por efecto del sistema de USAI (P = 0.0724, Gráfica 11), tiempo de tratamiento (P = 0.7665, Gráfica 12) ni por efecto de la interacción entra ambos factores (P = 0.6155, Gráfica 13). En la Grafica 11 podemos apreciar que el sistema de baño tiende a reducir el pH del músculo (desde 5.44 en los controles hasta 5.33 en sistema de baño). Sin embargo la diferencia no fue significativa. En las muestras tratadas en sistema de sonda el pH se mantuvo en 5.5. Por lo tanto, el tratamiento con USAI no produjo cambios significativos en el pH del m. *Longissimus dorsi*.

De acuerdo a Jayasooriya *et al.* (2007), el pH de los músculos de *Longissimus lumborum* (LL), *Longissimus thoracis* (LLT) y *Semitendinosus* (ST) se mantuvieron en un rango de 5.37-5.71 después del tratamiento con USAI (24 kHz, 12 W/cm²). A pesar de que después de 8.5 d de maduración el pH se incrementó, las diferencias no fueron significativas.

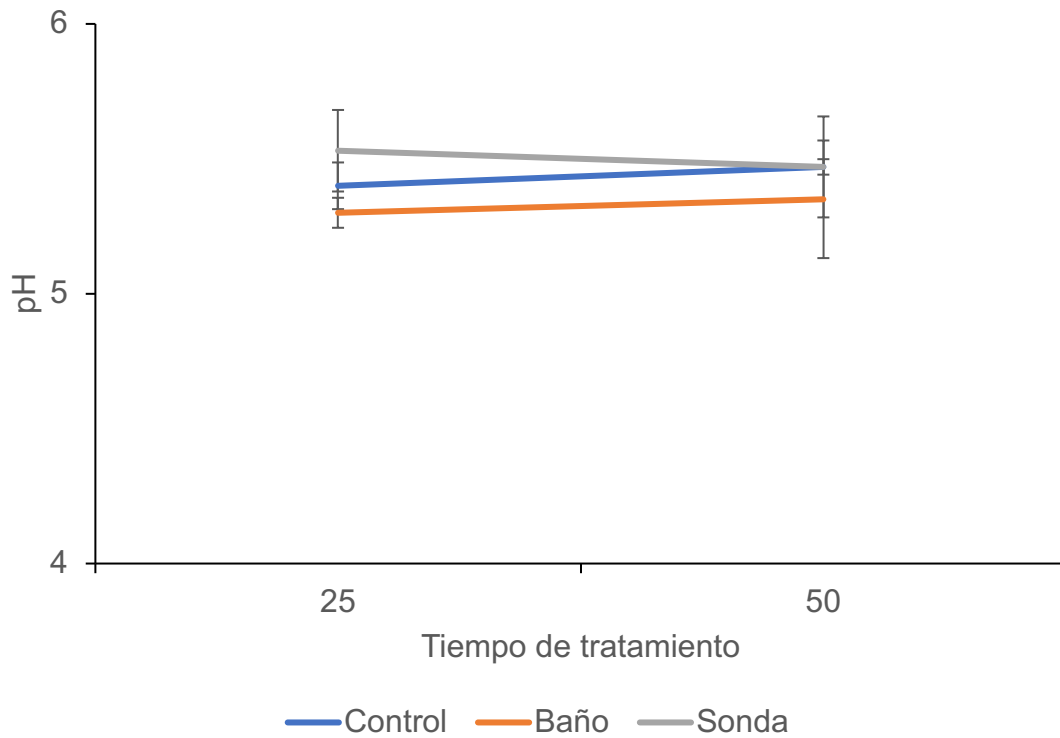
Diaz-Almanza *et al.* (2019) encontraron resultados similares a los nuestros. En este caso, trataron con USAI cortes de 2.5 cm de grosor en sistema de baño (90 W/cm², 37 kHz). Contrariamente Wang *et al.* (2018) reportaron que el pH de la carne tratada con USAI (muestras de 80 x 70 x 25 mm, m. *Semitendinosus*) en sistema de sonda ultrasónica (25 W/cm²) durante 20 y 40 min era significativamente más alto (P < 0.05) inmediatamente después del tratamiento, sin cambios significativos posterior al madurado.



Gráfica 11. Medias (\pm D.E.) del pH del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.



Gráfica 12. Medias (\pm D.E.) del pH del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.



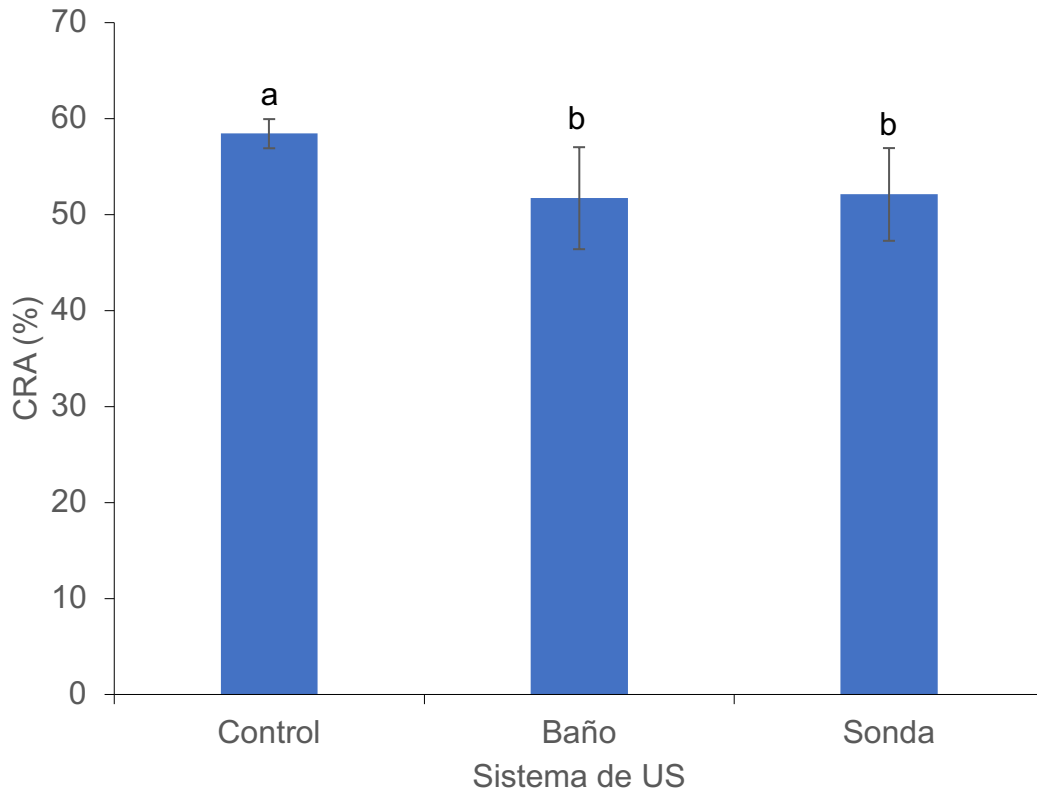
Gráfica 13. Medias (\pm D.E.) del pH del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.

Finalmente, Caraveo *et al.* (2015) mostraron que la aplicación de USAI (11 W/cm², 40 kHz) en cortes de 1.27 cm de grosor durante 60 y 90 min produjo una disminución significativa en el pH del músculo ($P < 0.05$) Estos investigadores reportaron rangos de pH entre 5.3 y 5.6.

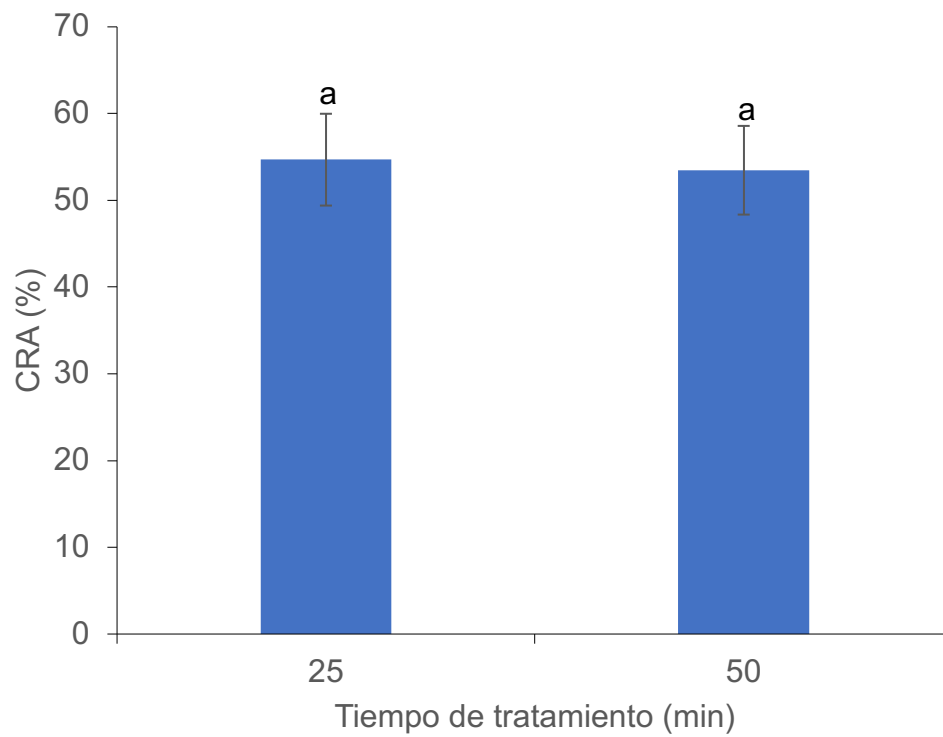
Capacidad de Retención de Agua (CRA)

Los resultados mostraron una disminución significativa en la CRA del m. *Longissimus dorsi* bovino tratado con US ($P = 0.0109$), independientemente del tipo de sistema (sonda o baño, Gráfica 14). La disminución en el % de CRA es una característica de calidad negativa, ya que el músculo tiene menos capacidad para retener el agua, disminuyendo significativamente la jugosidad y el rendimiento. El tiempo de tratamiento (25 y 50 min) no tuvieron ningún efecto en la CRA del m. *Longissimus dorsi* bovino ($P = 0.0579$) (Gráfica 15). La combinación entre los factores (sistema de US*tiempo de tratamiento) tampoco resultaron significativas ($P = 0.6063$), de manera que la CRA en cada sistema (control sin US, baño o sonda) no presentó cambios significativos al incrementar el tiempo de tratamiento (desde 25 hasta 50 min) (Gráfica 16).

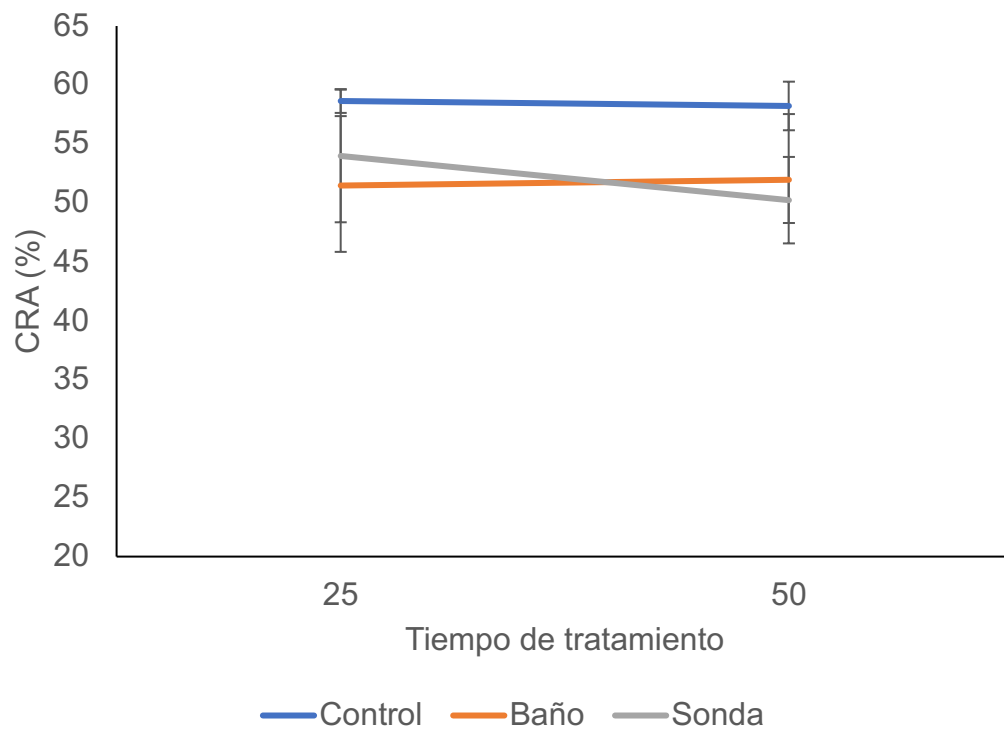
Resultados diferentes a los nuestros fueron obtenidos por Zou *et al.* (2018) utilizando USAI (0, 400, 600, 800 and 1000 W y 20 kHz); estos investigadores reportaron un incremento significativo en la CRA y una disminución en las pérdidas por cocción. De acuerdo con esta investigación, la aplicación de USAI genera una disrupción celular que aumenta los espacios intermiofibrilares, provocando la apertura de canales que retienen moléculas de agua. Por otro lado, Kang *et al.* (2016) emplearon USAI (150 y 300 W) durante 30 y 120 min en carne marinada con



Gráfica 14. Medias (\pm D.E.) de la capacidad de retención de agua (CRA) del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.



Gráfica 15. Medias (\pm D.E.) de la capacidad de retención de agua (CRA) del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.



Gráfica 16. Medias (\pm D.E.) de la capacidad de retención de agua (CRA) del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.

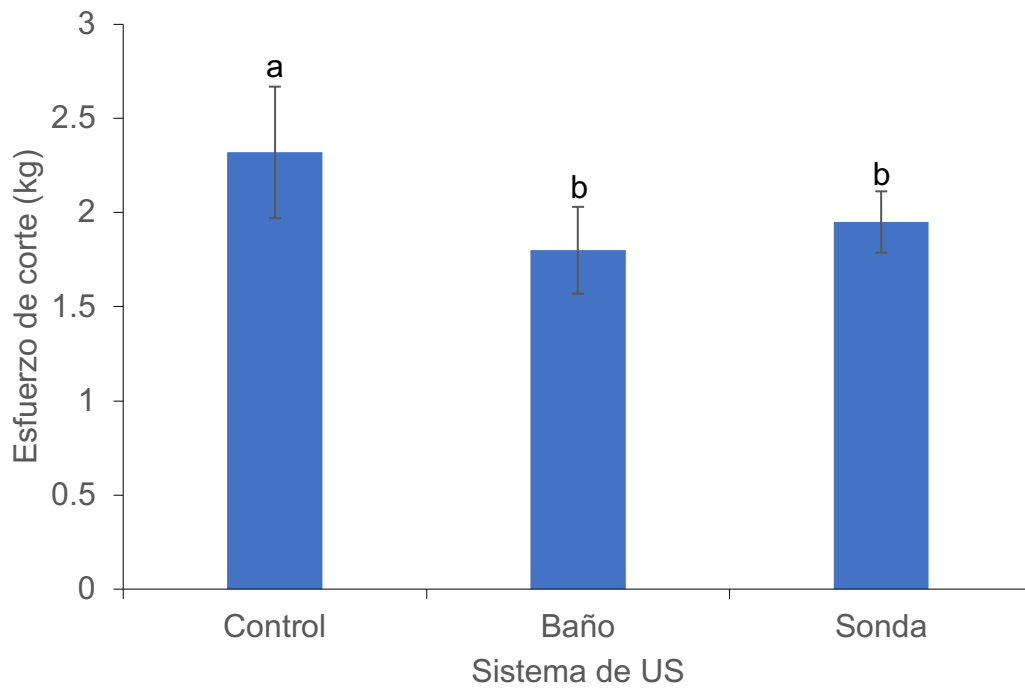
asistencia de ultrasonido. Sus resultados mostraron un incremento significativo en la CRA. Sin embargo, el USAI no fue suficiente para incrementar significativamente la CRA de muestras de una pulgada de grosor a tiempos de 25 y 50 min. McDonnell *et al.* (2014) utilizaron USAI (19 W/cm^2) durante 10, 25 y 45 min en m. *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) de cerdo; sus resultados no mostraron diferencia significativa en la CRA ($P > 0.05$).

Finalmente, Pohlman *et al.* (1996) no observaron diferencia estadística al tratar cortes de m. *pectoralis* (8 x 8 x 2.5 cm) con 22 W/cm^2 y 20 kHz a diferentes tiempos y días de almacenamiento (5 y 19 min; 1, 6 y 10 d); en este caso, los investigadores justificaron sus resultados por el tiempo de exposición al USAI, el cual ocasionó una baja desnaturalización proteica que no permitió incrementar la retención de agua.

Esfuerzo de corte

Los resultados mostraron una disminución significativa en el esfuerzo de corte del músculo *Longissimus dorsi* bovino por efecto del tratamiento con US ($P = 0.0046$), independientemente del sistema utilizado (sonda o baño) (Gráfica 17). La disminución en la dureza del músculo por efecto del tratamiento con US constituye un hallazgo novedoso para recomendar esta tecnología emergente como promisorio bajo las condiciones experimentales de este estudio. Numerosos investigadores han reportado un incremento en la ternura de la carne por efecto del tratamiento con ultrasonido.

En cuanto al tiempo de tratamiento con US (control, baño y sonda), los resultados no mostraron diferencia significativa en el esfuerzo de corte de

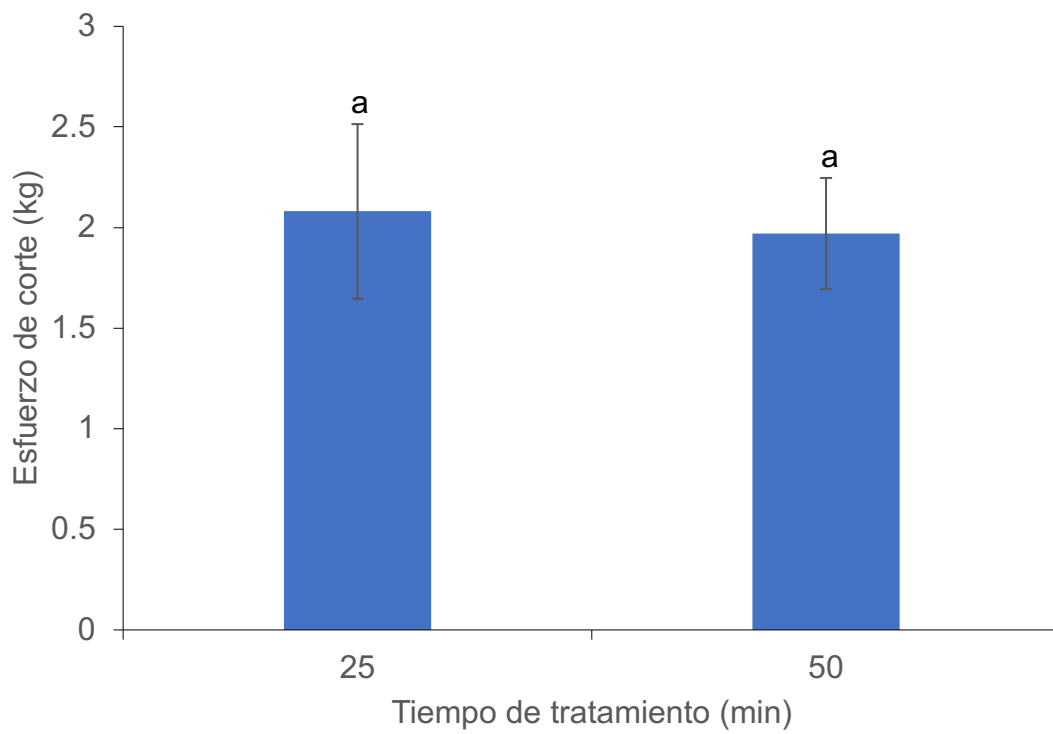


Gráfica 17. Medias (\pm D.E.) del esfuerzo de corte del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.

Longissimus dorsi al utilizar 25 o 50 min ($P = 0.3941$) (Gráfica 18). La combinación del sistema de US*tiempo de US resultó significativa ($P = 0.0212$). La Gráfica 19 muestra una disminución significativa en el esfuerzo de corte de *Longissimus dorsi* conforme se incrementa el tiempo de tratamiento en el control. Sin embargo, el incremento en el tiempo de US no tuvo ningún efecto en esfuerzo de corte de *Longissimus dorsi*, tanto en sistema de sonda como de baño.

Resultados semejantes a los nuestros fueron reportados por Peña-Gonzalez *et al.* (2017), quienes observaron cambios significativos en el esfuerzo de corte ($P < 0.0001$) *Longissimus dorsi* de 13 x 9 x 2.5 cm tratados con USAI durante 60 min (30 min/ lado), en comparación con su grupo control. De igual manera, Diaz-Almanza *et al.* (2019) mostraron que el esfuerzo de corte disminuyó significativamente conforme los tiempos de exposición al USAI fueron más prolongados. Sin embargo, los valores de esfuerzo de corte obtenidos por estos investigadores fueron más altos que los observados en la presente investigación, lo cual podría atribuirse a que el empaque al vacío, podría atenuar el contacto que la cavitación acústica tiene con la muestra (Garcia-Galicia *et al.*, 2019) al utilizar bolsas de 70 μm de grosor.

Estudios realizados por Jayasooriya *et al.* (2007) demostraron que la carne tratada con USAI (60 x 40 x 20 mm, 24kHz, 12 W/cm²) durante 240 s y madurada por 8.5 d aumenta significativamente su terneza sin comprometer las coordenadas CIEL*a*b*. En este caso, tiempos muy reducidos de USAI con un proceso de madurado de 8.5 d proveen de una mayor terneza a la carne.



Gráfica 18. Medias (\pm D.E.) del esfuerzo de corte del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.

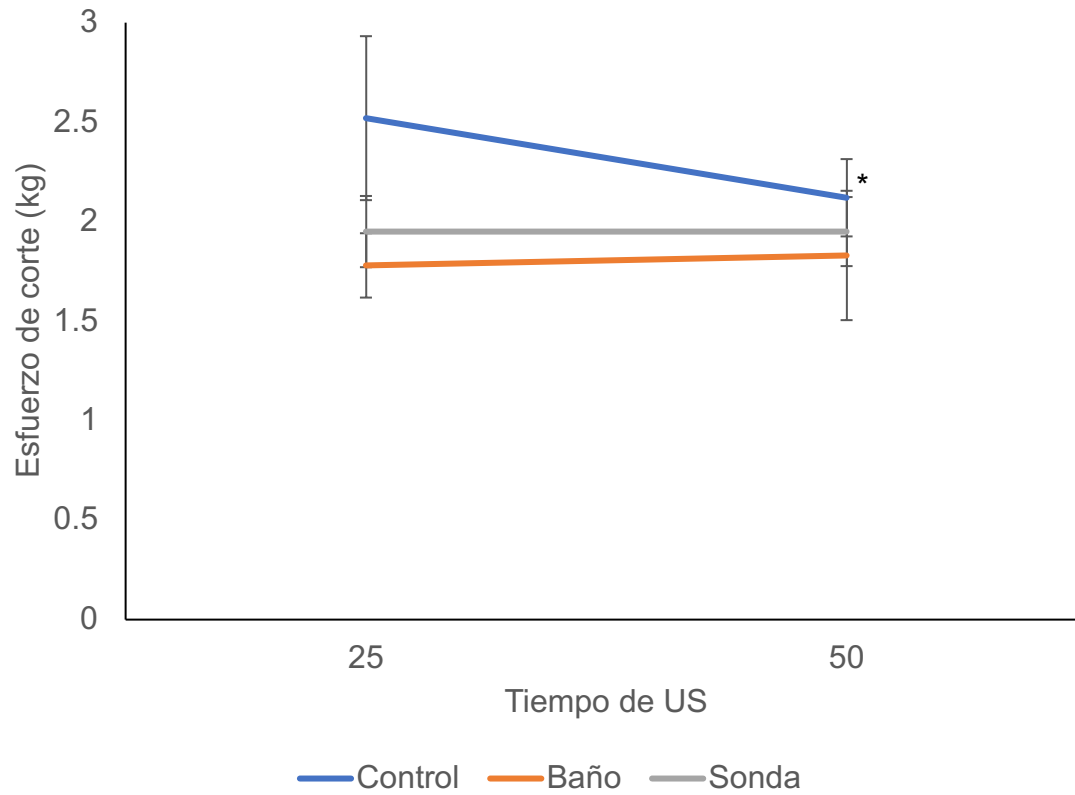
Wang *et al.* (2018) también encontraron resultados similares utilizando sonda ultrasónica (25 W/cm², 20 y 40 min, almacenamiento a 4 °C por 1, 3 y 7 d) en m. *Semitendinosus*. Los resultados mostraron que en comparación con el día 0, el día 3 y 7 muestran un incremento en la fragmentación miofibrilar y una reducción significativa en el esfuerzo de corte (P < 0.05).

Concluyendo, los resultados observados muestran que el USAI aumenta la terneza de la carne debido al fenómeno de cavitación acústica. La cavitación acústica genera la formación de burbujas que colapsan eventualmente al alcanzar su punto máximo de presión interna. Este fenómeno causa efectos térmicos, químicos y mecánicos. La implosión de las burbujas afecta la integridad de la estructura muscular (Bhaskaracharya *et al.*, 2009; Peña-Gonzalez *et al.*, 2017).

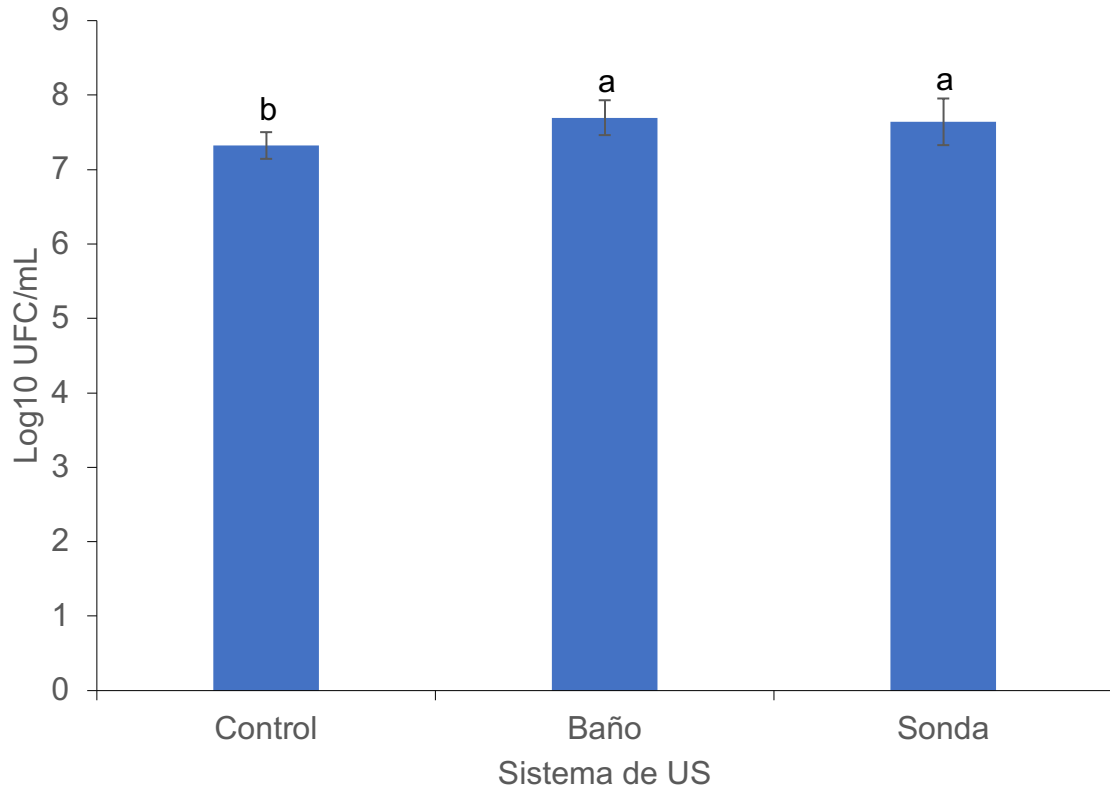
El USAI ejerce un efecto de tenderización en cortes de 2.54 cm tanto en tiempos cortos (25 min) como largos (Gráfica 19). Diversos estudios han mostrado el uso de tiempos de tratamiento mayores a 30 min. En esta investigación, mostramos que tiempos de 25 min son suficientes para incrementar la terneza del m. *Longissimus dorsi* después de 7 d de almacenamiento a 4 °C, sin necesidad de utilizar 50 min.

Evaluación microbiológica

Bacterias mesófilas. Los resultados mostraron diferencias significativas en los conteos de la flora aeróbica total del m. *Longissimus dorsi* bovino por efecto del sistema de USAI (P = 0.0088). Los tratamientos con USAI incrementaron significativamente los conteos de bacterias mesófilas, desde 7.32 log₁₀ UFC/mL en



Gráfica 19. Medias (\pm D.E.) del esfuerzo de corte del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.



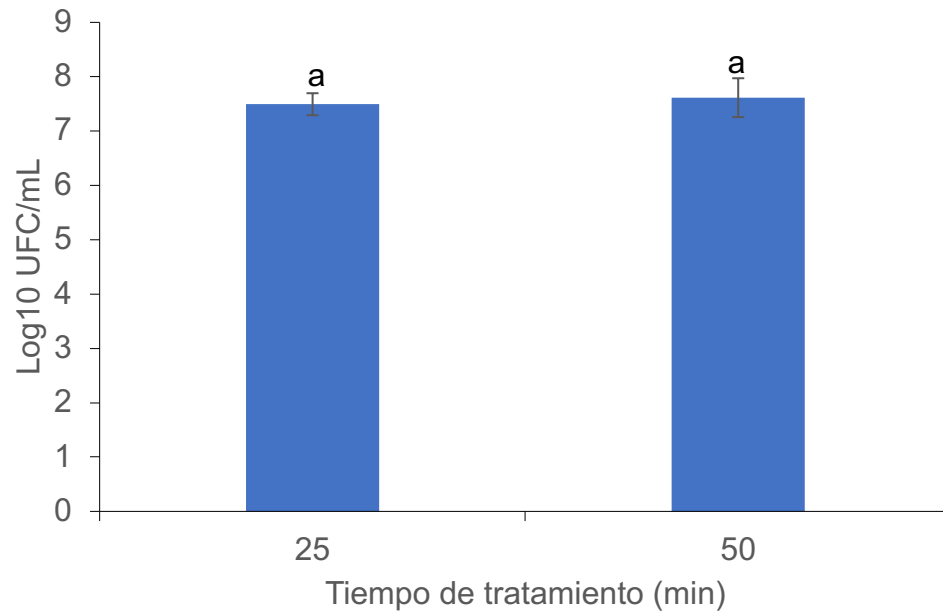
Gráfica 20. Medias (\pm desviación estándar) del conteo de bacterias mesófilas del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.

el control sin USAI, hasta 7.64 y 7.69 en baño y sonda, respectivamente (Gráfica 20). El tiempo de tratamiento (20 o 50 min) no tuvo ningún efecto en los conteos de bacterias mesófilas ($P = 0.2114$, Gráfica 21), mientras que la interacción entre factores resultó significativa ($P = 0.0149$, Gráfica 22). Existe un incremento significativo en el conteo de bacterias mesófilas en el sistema de sonda cuando se el tiempo de tratamiento aumenta desde 25 hasta 50 min.

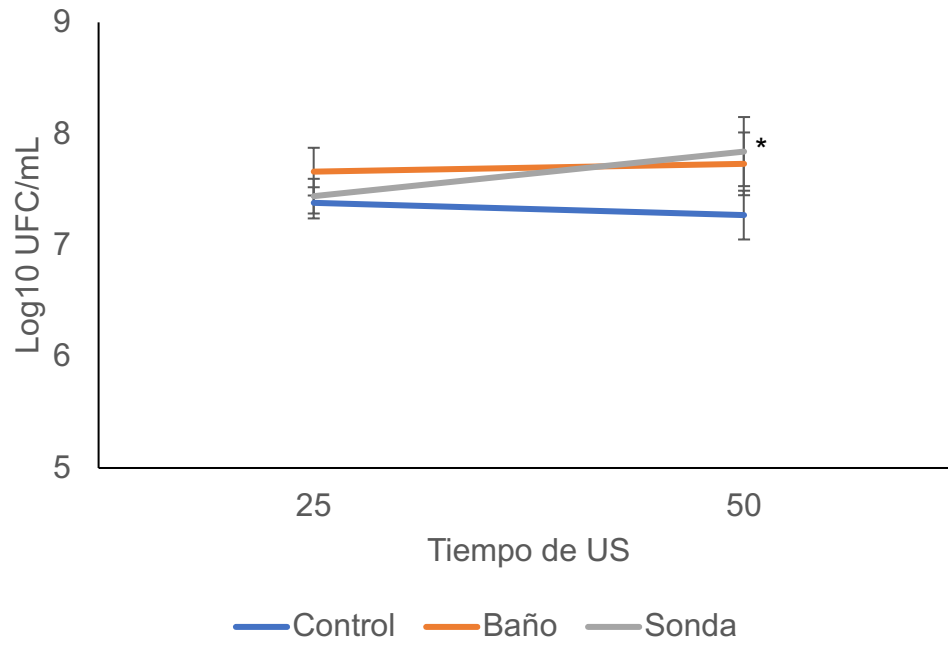
De acuerdo con los resultados obtenidos por Piñon *et al.* (2018) en pechugas de pollo tratadas con USAI (9.6 W/cm² 40 kHz) durante 0, 30 y 50 min, inmediatamente después del tratamiento con USAI hubo una disminución significativa en el conteo de bacterias mesófilas. Sin embargo, estos resultados no fueron permanentes y a los 7 d después del almacenamiento existió un incremento significativo ($P < 0.0001$) en el conteo de este grupo de bacterias, de manera que estos resultados son semejantes a los obtenidos durante esta investigación.

En otra investigación, Díaz-Almanza *et al.* (2019) también obtuvieron resultados similares en el m. *Longissimus lumborum* tratado bajo un sistema de baño ultrasónico (90 W/cm², 37 kHz) durante 0, 10, 20 y 40 min. El conteo de bacterias mesófilas disminuyó significativamente a los 10 min de tratamiento con USAI; sin embargo, después de 20 min de tratamiento hubo un incremento significativo ($P < 0.05$) de bacterias mesófilas, y a los 40 min hubo un incremento no significativo.

Los microorganismos mesófilos son relevantes en la industria alimentaria cuando la temperatura de almacenamiento se eleva a 15°C. Mukhopadhyay *et al.*



Gráfica 21. Medias (\pm D.E.) de los conteos de bacterias mesófilas del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.



Gráfica 22. Medias (\pm D.E.) de los conteres de bacterias mesófilas del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.

(2012) sugieren que la cavitación transitoria (ráfagas cortas y violentas) puede ser la razón para la inactivación microbiana en rangos de frecuencia baja, y que su efecto es mejor que la cavitación estable (menos violenta con vibraciones en cuerpos gaseosos). De acuerdo con Mukhopadhyay *et al.* (2012), con un mayor número de burbujas y una mayor duración de la intensidad de la cavitación, se consigue una mayor inactivación de microorganismos. Sin embargo, bajo las condiciones experimentales de este estudio, el USAI debería acompañarse con otra tecnología para que sea efectiva la reducción microbiana, como el uso de temperatura (termo-sonicación) o presión (mano-sonicación).

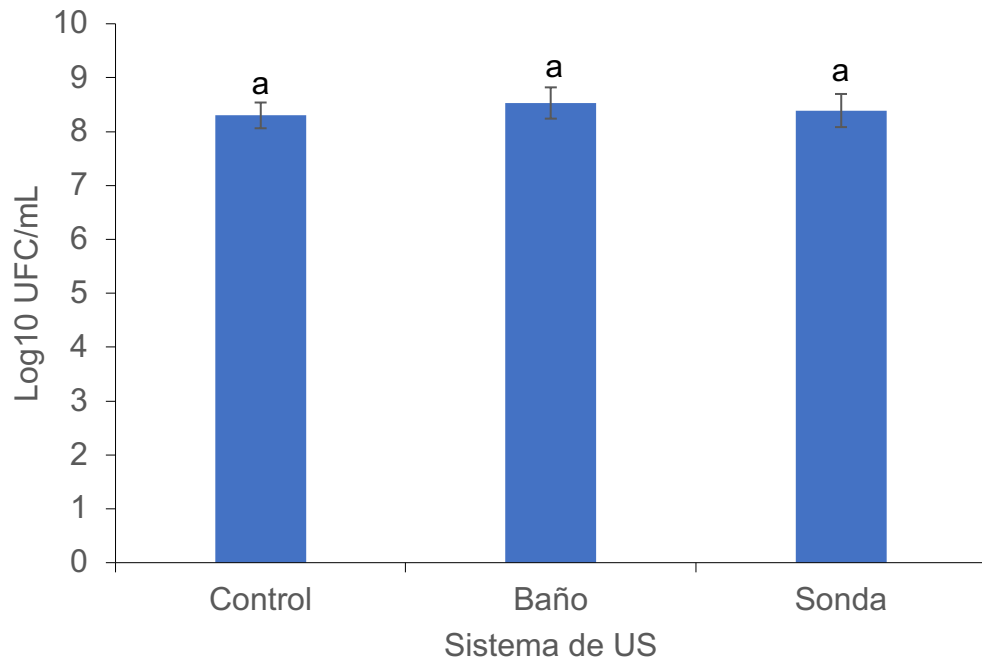
El ultrasonido de alta intensidad causa la muerte de microorganismos debido al fenómeno de la cavitación (Cameron, 2007). Sin embargo, el ultrasonido de baja intensidad no produce el daño celular necesario para la eliminación de microorganismos debido a la escasa formación de burbujas producidas durante la cavitación (Jørgensen *et al.*, 2008). El efecto del ultrasonido sobre los agentes alterantes de los alimentos es limitado y dependiente de múltiples factores. Por esto, su aplicación se ha encaminado hacia la combinación simultánea o alterna con otras técnicas de conservación. Los factores que también influyen en el procesamiento del ultrasonido para la eliminación de los microorganismos son la frecuencia de las ondas ultrasónicas, el tiempo de exposición del microorganismo al ultrasonido, el tipo de microorganismos, el volumen de alimentos a procesar, la composición de los alimentos y la temperatura (Demirdöven y Baysal, 2009).

Bacterias psicrófilas. No se encontraron diferencias significativas en los conteos de bacterias psicrófilas en el m. *Longissimus dorsi* bovino por efecto del

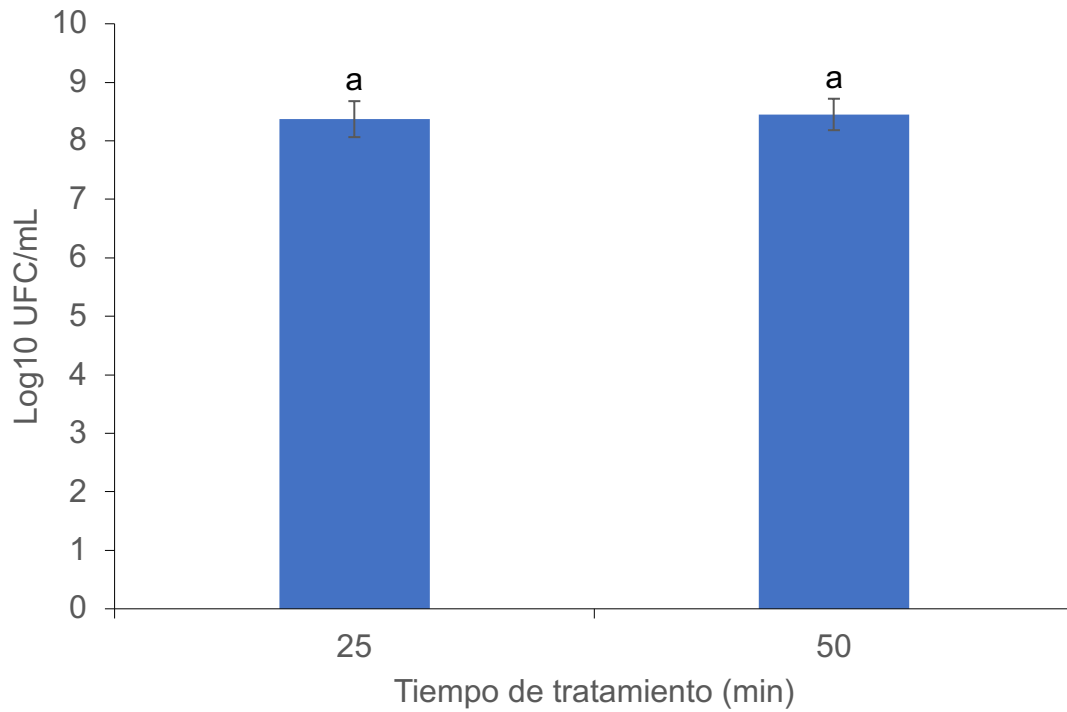
sistema de USAI (Gráfica 23, $P = 0.2698$), tiempo de tratamiento (Gráfica 24, $P = 0.5342$) ni la combinación entre ambos factores (Gráfica 25, $P = 0.3162$).

Se hipotetiza que el empacado al vacío constituye una barrera que evita la expresión eficiente del fenómeno de cavitación, lo cual evita la disminución de la carga microbiana. Esto es, el empacado al vacío pudo atenuar el contacto directo con las ondas ultrasónicas en ambos sistemas ultrasónicos. De acuerdo con Piñon *et al.* (2018), bajo condiciones de empacado al vacío y refrigeración adecuada los conteos de bacterias psicrófilas no muestran diferencia significativa durante el almacenamiento. Acorde con esto, Piñon *et al.* (2018) reportaron una disminución en el conteo de bacterias psicrófilas inmediatamente después del tratamiento con USAI (850, 20 y 40 kHz) en porciones de carne de pollo de 150 g. Sin embargo, no encontraron diferencia estadística significativa ($P = 0.7619$) a los 7 d de almacenamiento. Dolatowski y Stasiak (2002) también reportaron que no existió diferencia significativa en los conteos de bacterias psicrófilas por efecto del tratamiento con ultrasonido (25 kHz y 2 W/cm^2) antes y después de la inyección de salmuera bajo condiciones de refrigeración. Contrariamente, Carrillo-López *et al.* (2019) observaron que el tratamiento con USAI (90 W/cm^2 , 20 y 40 min) en rebanadas de 2.5 cm de *Longissimus dorsi* aumentó significativamente los conteos de bacterias psicrófilas ($P < 0.0001$) después de 7 d de almacenamiento en condiciones de refrigeración.

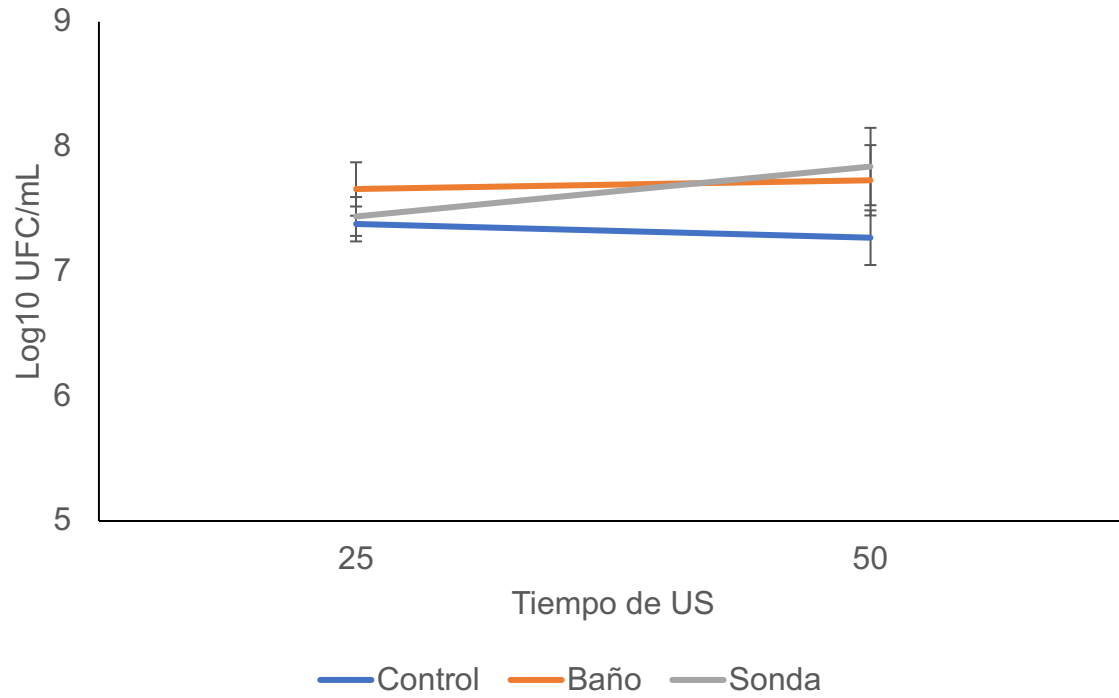
En el estudio realizado por Caraveo *et al.* (2015), los resultados mostraron que el tratamiento con ultrasonido (11 W/cm^2 , 40 kHz) en cortes de 1.27 cm en el m. *Semitendinosus* utilizando 60 y 90 min, produjeron diferencias significativas en



Gráfica 23. Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias psicrófilas del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.



Gráfica 24. Medias (\pm D.E.) de los conteos de bacterias psicrófilas del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.



Gráfica 25. Medias (\pm D.E.) de los conteros de bacterias psicrófilas del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.

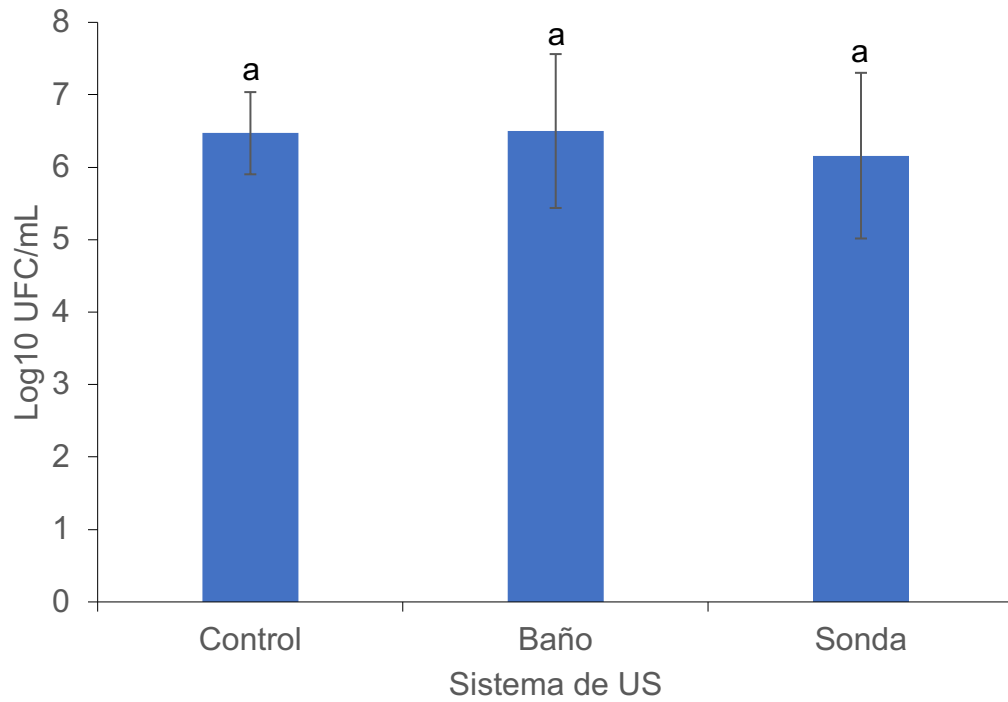
en los conteos de psicrófilas en comparación con el grupo no tratado (control), evidenciando que el tiempo de exposición al USAI es relevante en la inactivación microbiana. Acorde con esto, Diaz-Almanza *et al.* (2019) reportaron un aumento significativo ($P < 0.05$) en los conteos de bacterias psicrófilas cuando el tiempo de tratamiento fue de 20 min, mientras que tiempos mayores de tratamiento disminuyeron los conteos de este grupo de bacterias.

Las bondades que el tratamiento con ultrasonido podría producir en la inactivación de las bacterias depende de los organismos presentes en el alimento (Piyasena, 2003; Demirdöven y Baysal, 2009). A este respecto, diversas investigaciones se han enfocado al efecto del ultrasonido en bacterias de interés como *Listeria monocytogenes*, cepas de *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* y algunos otros microorganismos patógenos asociados con la carne y sus productos (Piyasena, 2003; Demirdöven y Baysal, 2009). En general, los psicrótrofos como las *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* y *Lactobacillus*, predominan en carne refrigerada en cantidades que dependen del pH inicial y de la atmósfera gaseosa. Entre las condiciones que favorecen la proliferación microbiana en la carne y los productos cárnicos están incluidos los factores de crecimiento o condiciones favorables para que los microorganismos presentes en ellos aumenten su número y por consiguiente se incremente la población microbiana. Cuando se presenta alguno de los factores de riesgo y los productos se contaminan, comienzan a jugar un papel importante las condiciones y características de la carne y se estimula el crecimiento y multiplicación de los microorganismos infectantes (Sofos, 1994).

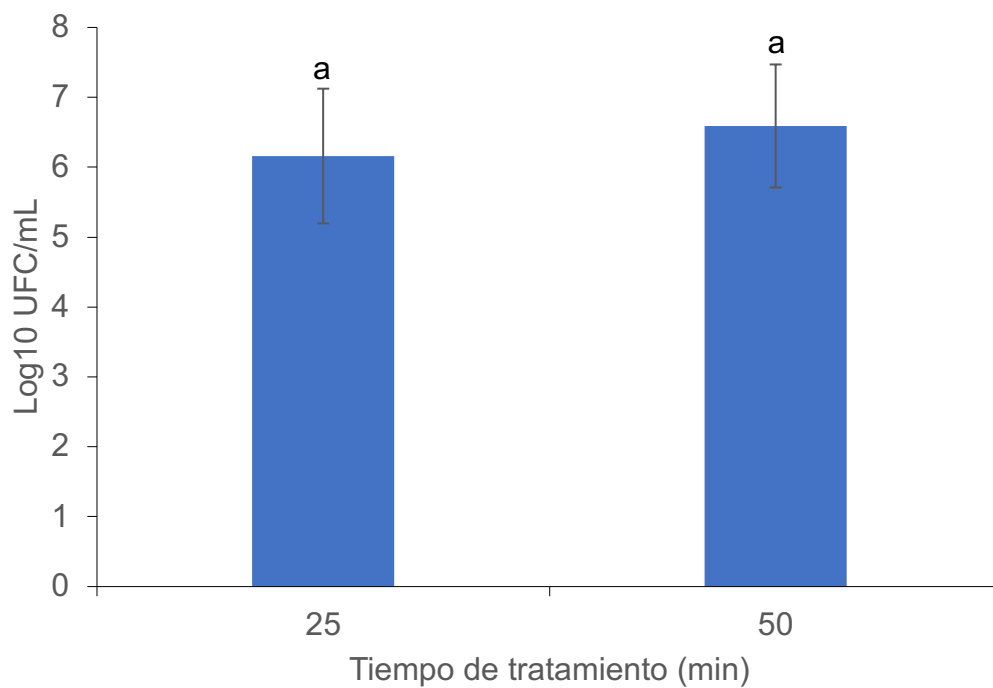
Coliformes. Al igual que con bacterias psicrófilas, los resultados no mostraron diferencias estadísticas significativas en el conteo de bacterias coliformes por efecto del sistema de USAI ($P = 0.7047$, Gráfica 26), tiempo de tratamiento ($P = 0.249$, Gráfica 27) ni la combinación entre ambos factores ($P = 0.2568$, Gráfica 28).

Si bien la aplicación de USAI por sí solo no ejerce un efecto de eliminación o inactivación de microorganismos, tampoco incrementa el conteo de este grupo de bacterias. Por lo tanto, es necesaria una tecnología acompañante que permita el control eficiente de bacterias coliformes en *L. dorsii*. A este respecto, muchas investigaciones se han enfocado al uso de temperatura con combinación con USAI para lograr un control bacteriano eficiente en alimentos.

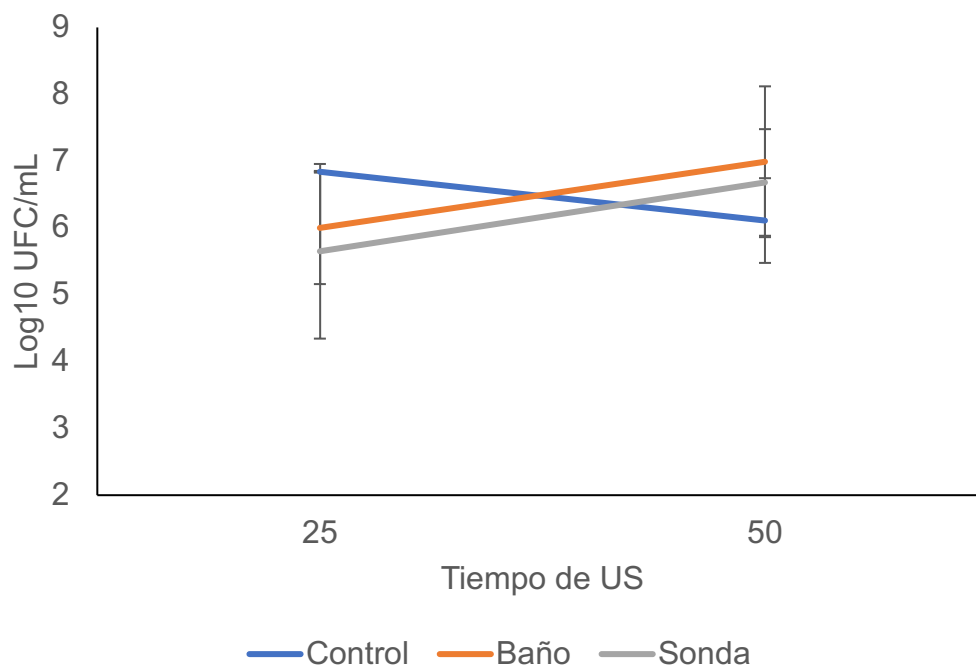
La aplicación de ultrasonido en combinación con el tratamiento térmico ($53 \pm 1^\circ\text{C}$) (Haughton *et al.*, 2012) redujo las cargas de *Campylobacter jejuni*, Enterobacteriaceae y conteos totales (cuenta viable total), por lo que estas bacterias fueron sensibles a la termosonicación de alta intensidad; por otro lado, *Campylobacter jejuni* resultó ser más susceptible a la termosonicación que a la sonicación. En este estudio la termosonicación de baja intensidad redujo en menor medida el conteo de Enterobacteriaceae y bacterias totales. Se utilizaron dos configuraciones de ultrasonido que suministraron tratamientos de sonicación de baja intensidad (LI) o de alta intensidad (HI) por unidad de volumen. La unidad HI consistió en un procesador ultrasónico UP400 (Hielscher Ultrasonics GmbH, Teltow, Berlín). Mientras que la unidad ultrasónica LI era un baño de sonicación Pulsatron KS 525MK3 (Guyson International Ltd., Skipton, Reino Unido) de 54 L de capacidad con una frecuencia de funcionamiento de 40 kHz. Con las configuraciones utilizadas



Gráfica 26. Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias coliformes del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.



Gráfica 27. Medias (\pm D.E.) de los conteos de bacterias coliformes del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.



Gráfica 28. Medias (\pm D.E.) de los coneros de bacterias coliformes del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.

en el presente estudio, la potencia por unidad de volumen de los tratamientos ultrasónicos HI y LI se calculó en 20,000 y 20 W·L, respectivamente.

En un experimento utilizando piel de pollo tratada con ondas sónicas de 47,000Hz y 200W, no se encontró reducción del recuento de aerobios en placa después de 0, 7 y 14 d de almacenamiento. Se sugirió que la falta de efecto podría ser debido a la superficie irregular de la piel, que puede haber proporcionado una barrera para los microbios (Piyasena, 2003).

Diaz-Almanza *et al.* (2019) reportaron que a pesar de que el conteo de bacterias coliformes disminuyó significativamente ($P < 0.05$) después de 10 min de tratamiento, posteriormente hubo un incremento significativo ($P < 0.05$) conforme aumentó el tiempo de USAI. Estos investigadores utilizaron carne desnuda sin empaque, por lo que hubo contacto directo del músculo con las ondas ultrasónicas. Esto probablemente redujo la carga microbiana significativamente, en comparación con los resultados obtenidos en la presente investigación, en la que el empaque pudo obstruir o atenuar el efecto del USAI (García-Galicia *et al.*, 2019) sobre los cortes de *L. dorsii*. En otra investigación, Carrillo-Lopez *et al.* (2019) observaron un incremento significativo en los conteos de coliformes después del tratamiento con USAI (90 W/ cm², 20 y 40 min) en cortes de 2.54 cm de *L. dorsii* almacenados a temperatura de 4 °C durante 7 d. Contrariamente, Caraveo *et al.* (2015) observaron que las bacterias psicrófilas fueron significativamente afectadas por el tratamiento con ultrasonido (11 W/cm², 40 kHz, 60 y 90 min) en secciones de 1.27 cm de grosor almacenadas durante 1, 6 y 10 d.

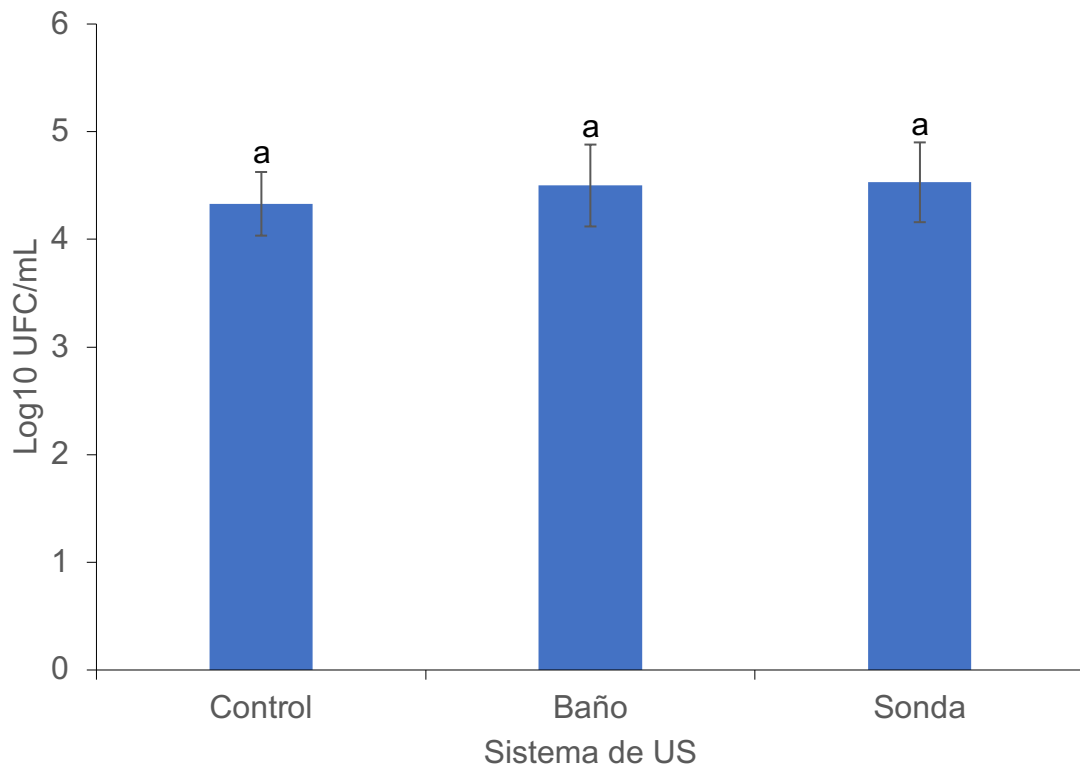
Bacterias ácido lácticas (BAL). Los resultados no mostraron diferencias estadísticas significativas en los conteos de bacterias acidolácticas (BAL) por efecto del sistema de USAI ($P = 0.4192$, Gráfica 29), tiempo de tratamiento ($P = 0.2026$, Gráfica 30) ni combinación entre factores ($P = 0.1533$, Gráfica 31). Estos resultados pueden deberse a que el empacado al vacío atenuó el contacto directo con las fibras musculares superficiales.

Un incremento en el crecimiento de BAL hubiera tenido ventajas durante el almacenamiento de la carne, ya que es bien sabido que este grupo de bacterias posee un efecto antagonista contra bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Salmonella* y *Pseudomonas* (Woraprayote *et al.*, 2016; Piñon *et al.*, 2018). Teóricamente, se esperaba un incremento de BAL debido a que se favorecieron las condiciones de anaerobiosis durante el empacado al vacío, las cuales son ideales para el desarrollo de este grupo de bacterias.

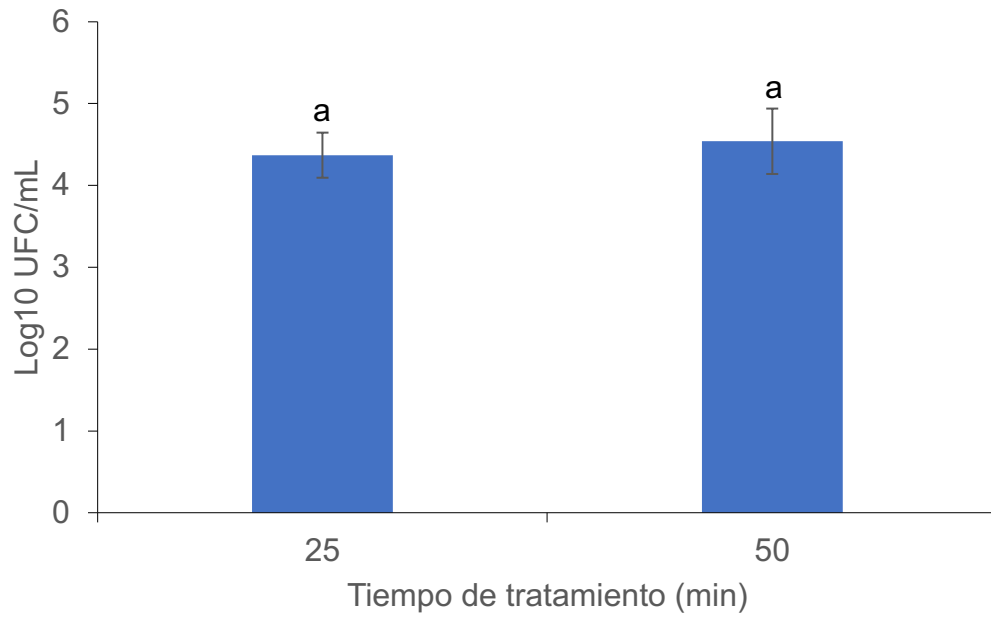
Sin embargo, nuestros resultados son semejantes a los obtenidos en el estudio realizado por Piñon *et al.* (2018), quienes reportaron que durante el tratamiento de pechugas de pollo (porciones de 150 g, empacadas al vacío, 30 y 60 min con USAI 40 kHz, 9.6 W/cm² no se encontraron diferencias significativas en los conteos de BAL ($P = 0.2207$).

Microestructura

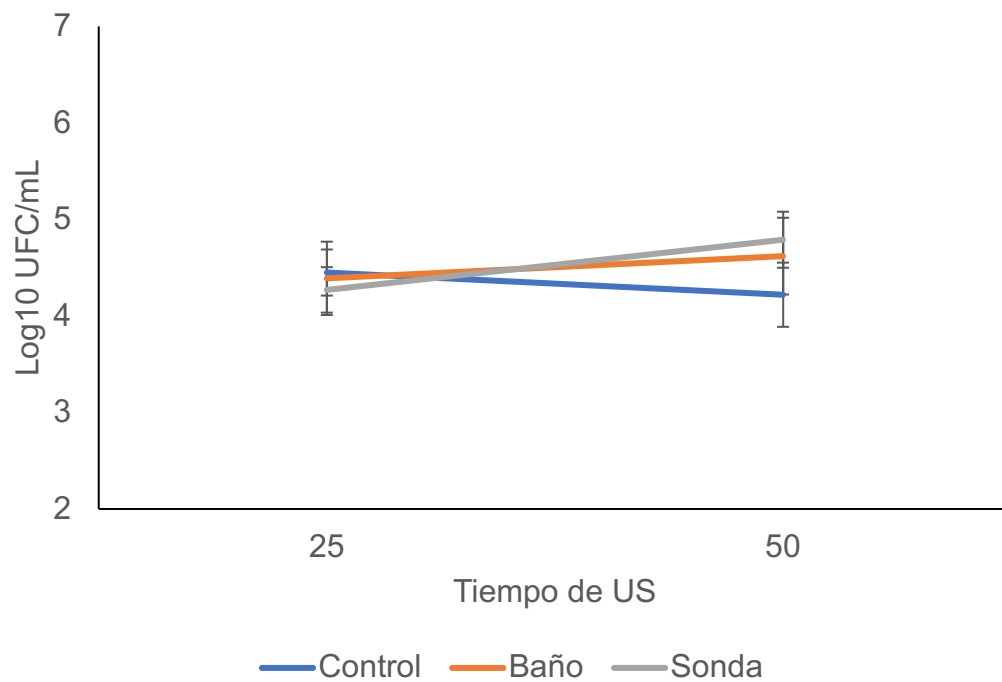
Los micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido mostraron diferencias visuales en la separación de las fibras del músculo. La mayor separación interfibrilar ocurrió en las muestras tratadas con USAI. Curiosamente, en el área de la muestra expuesta a los emisores de las ondas sónicas se observó una mayor



Gráfica 29. Medias (\pm D.E.) del conteo de bacterias ácido lácticas del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del sistema de USAI.



Gráfica 30. Medias (\pm D.E.) de los conteos de bacterias ácido lácticas del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto del tiempo de tratamiento.



Gráfica 31. Medias (\pm D.E.) de los conteos de bacterias ácido lácticas del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C por efecto de la interacción de los factores sistema de USAI y tiempo de tratamiento.

separación entre las fibras musculares (Figura 4a, que corresponde con la parte inferior del músculo en contacto con la base del sistema de baño de USAI, y Figura 4d, que corresponde a la parte superior del músculo en contacto con el sonotrodo en el sistema de sonda). En los controles también se observó una ligera separación entre las fibras, resultado del proceso de maduración normal en la carne después de 7 d de almacenamiento a 4 °C. Resultados semejantes a los de la presente investigación fueron obtenidos por Contreras *et al.* (2019). Quienes reportaron un incremento significativo en los espacios interfibrilares del m. *Biceps femoris* empacado en bolsas de bajo grosor (desde 194 μm^2 en los espacios interfibrilares de los controles sin USAI hasta 634 μm^2 en la carne empacada en bolsas de 50 μm^2 , en un área de 10,000 μm^2). Estos investigadores encontraron una relación directa entre los espacios interfibrilares y el esfuerzo de corte, de manera que aquellas muestras que tuvieron mayor separación entre fibras presentaron menor dureza. Carrillo-Lopez *et al.* (2019) también encontraron que el tratamiento con USAI en el m. *Longissimus dorsi* aumenta drásticamente las áreas interfibrilares cuando se utiliza sistema de baño (16, 28 y 90 W/cm²). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en esfuerzo de corte entre muestras tratadas y controles.

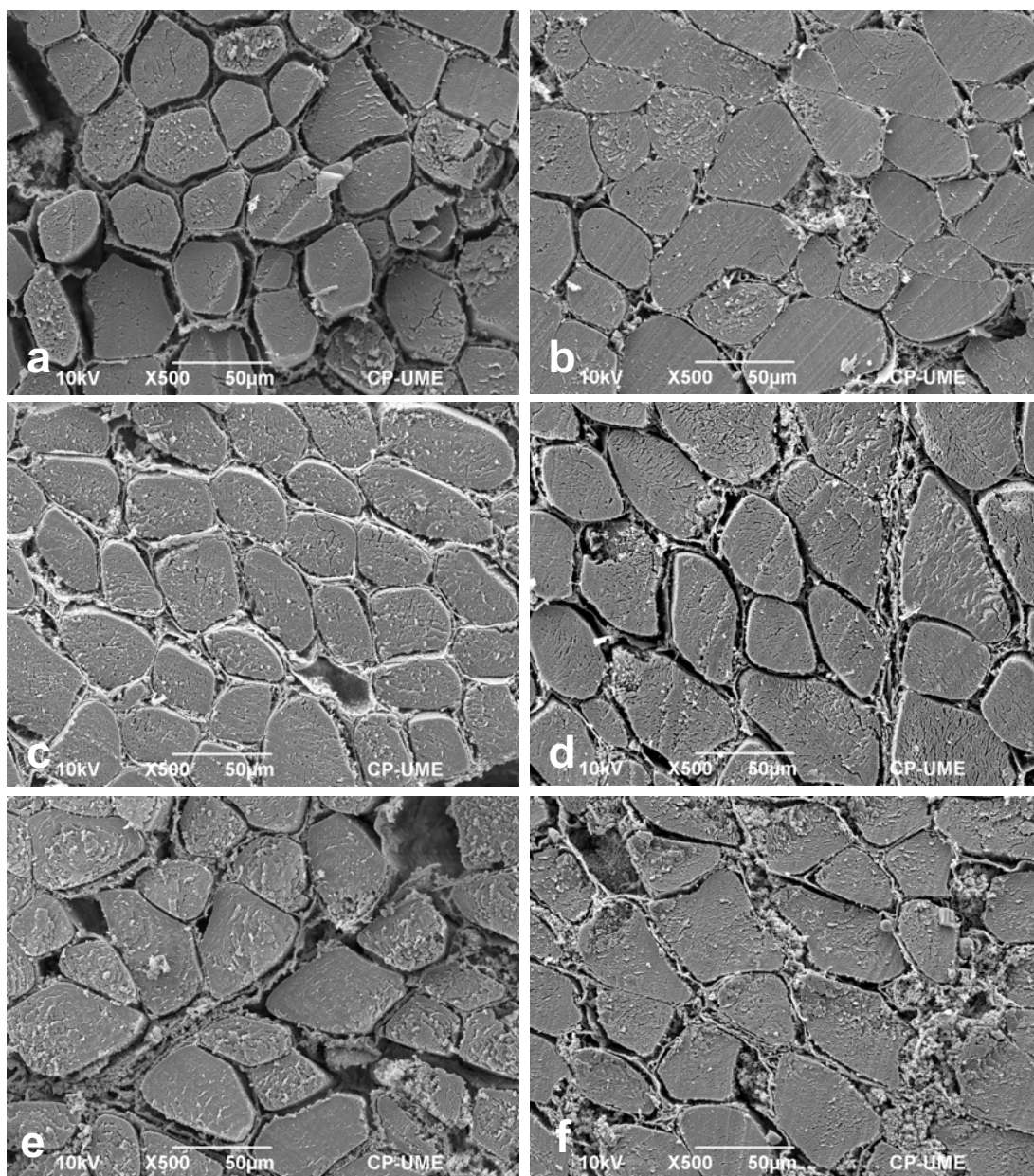


Figura 4. Micrografías electrónicas de barrido de cortes transversales del m. *Longissimus dorsi* bovino almacenado durante 7 d a 4 °C tratado durante 50 min con USAI; a. Baño USAI, área inferior, b. Baño USAI, área superior, c. Sonda USAI, área inferior, d. Sonda USAI, área superior, e. Control sin USAI, área inferior, f. Control sin USAI, área superior.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El ultrasonido de alta intensidad, bajo las condiciones experimentales de este estudio, constituye una tecnología eficiente para favorecer la terneza del m. *Longissimus dorsi* bovino, tanto en sistema de sonda como de baño. Sin embargo, la capacidad de retención de agua disminuyó significativamente, lo cual podría afectar presumiblemente los rendimientos en la industria. A pesar de esto, la luminosidad del músculo se incrementó significativamente, por lo que visualmente la carne tuvo una apariencia más atractiva, lo cual debería de favorecer la intención de compra del consumidor. Otras características de calidad como el pH y los parámetros de color a^* , b^* , hue y croma no se vieron afectados por efecto del tratamiento con USAI. Si bien el tratamiento con USAI no constituye una tecnología promisorio para el control de grupos de bacterias que crecen bajo temperaturas de 25-40 °C (bacterias mesófilas), aquellas bacterias que se desarrollan bajo ambientes de refrigeración (bacterias psicrófilas) no se incrementaron durante los 7 d de almacenamiento a 4 °C. El USAI no controla eficientemente a las bacterias indicadoras de contaminación fecal (coliformes) ni es una tecnología eficaz para el aumento de bacterias benignas productoras de ácido láctico (bacterias acidolácticas). El tratamiento con USAI incrementa la separación interfibrilar en el músculo, de manera que el mayor daño ocurre en el área que se encuentra expuesta a los emisores de las ondas sónicas.

LITERATURA CITADA

- Alarcon-Rojo, A.D., H. Janacua, J.C. Rodriguez, L. Paniwnyk, T.J. Mason. 2015. Power ultrasound in meat processing. *Meat Sci.* 107: 86–93.
- Alarcon-Rojo, A. D., L. M. Carrillo-Lopez, R. Reyes-Villagrana, M. Huerta-Jimenez, I. A. Garcia-Galicia. 2019. Ultrasound and meat quality: A review. *Ultrason. Sonochem.* 55: 369–382.
- Alberti, P., B. Panea, G. Ripoll, C. Sañudo, J. L. Olleta, I. Negueruela, M. Campo y X. Serra. 2005. Medición del color. En *Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes*. Madrid: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). Monografías INIA: Ganadera 3:216-225.
- American Meat Science Association (AMSA). 2012. *Meat Color Measurement Guidelines*. Champaign, Illinois USA.
- American Meat Science Association (AMSA). 2015. *American Meat Science Association: Research guidelines for cooker, sensory evaluation and instrumental tenderness measurements of meat*. Second edition (version 1.0). 104 p.
- Bhaskaracharya, R. K, S. Kentish, M. Ashokkumar. 2009. Selected Applications of Ultrasonics in Food Processing. *Food Eng. Rev.* 1: 31–49.
- Cameron, M. 2007. Impact of low-frequency high-power ultrasound on spoilage and potentially pathogenic dairy microbes. Doctor of Philosophy in Food Science dissertation, Faculty of AgriSciences, University of Stellenbosch. Stellenbosch, Southafrica.
- Caraveo, O., A. D. Alarcon-Rojo, A. Renteria, E. Santellan 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, A. D. Alarcon-Rojo. 2019. Bacterial control and structural and physicochemical modification of bovine *Longissimus dorsi* by ultrasound. *Ultrason. Sonochem.* 58: 104608.
- Contreras-López, G. 2019. Efecto del grosor de empaque y tipo de músculo en la calidad de carne bovina asistida con ultrasonido. Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia y Ecología. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih. México.

- Demirdöven, A. y T. Baysal. 2009. The Use of Ultrasound and Combined Technologies in Food Preservation. *Food Rev. Int.* 25:1-11.
- Diaz-Almanza, S., R. Reyes-Villagrana, A. D. Alarcon-Rojo, M. Huerta-Jimenez, L. M. Carrillo-Lopez, C. Estep, J. Urbina-Perez, I. A. Garcia-Galicia. 2019. Time matters when ultrasonating beef: The best time for tenderness is not the best for reducing microbial counts. *J. Food Process. Eng.* 42: e13210.
- Dolatowski, Z., D. Stasiak. 2002. Bacterial contamination of meat and meat products after ultrasound treatment. *ACTA Scientiarum Polonorum* 1:55-65.
- Garcia-Galicia, I. A., M. Huerta-Jimenez, C. Morales-Piñon, S. Diaz-Almanza, L. M. Carrillo-Lopez, R. Reyes-Villagrana, C. Estep, A. D. Alarcon-Rojo. 2019. The impact of ultrasound and vacuum pack on quality properties of beef after modified atmosphere on display. *J Food Process Eng.* 2019;e13044.
- 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.
- Haughton, P. N., J. G. Lyng, D. J. Morgan, D. A. Cronin, F. Noci, S. Fanning y P. Whyte. 2012. An Evaluation of the Potential of High-Intensity Ultrasound for Improving the Microbial Safety of Poultry. *Food & Bioproc. Technol.* 5(3):992-998.
- Honikel, K. O. 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science* 49:447-457.
- Jayasooriya, S. D., P. J. Torley, B. R. D'Arcy y B. R. Bhandari. 2007. Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine semitendinosus and longissimus muscles. *Meat Sci.* 75: 628-639.
- Jørgensen, A. S., M. Christensen y P. Ertbjerg. 2008. Marination with kiwifruit powder followed by power ultrasound tenderizes porcine *M. Biceps femoris*. In: International Conference of Meat Science and Technology, Cape Town, Sudáfrica.
- Kang, D., Y. Zou, Y. Chen, L. Xing, G. Zhou, y W. Zhang. 2016. Effects of power ultrasound on oxidation and structure of beef proteins during curing processing, *Ultrason. Sonochem.* doi:10.1016/j.ultsonch.2016.04.024.
- Knorr D., M. Zenker, V. Heinz, y D.-U. Lee. 2004. Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends Food Sci. Techn.* 15, 261-266.

- Luna, M. L., J. J. Luna, H. Ruiz, L. Leyva C. B. Díaz. 2015. Eficiencia de la desinfección con aceites esenciales y ultrasonido sobre *Escherichia coli* inoculada en frutos de tomate y el impacto sobre la actividad antioxidante. Rev. Argent. Microbiol. 47: 251-255.
- McDonnell, C.K., P. Allen, C. Morin, J.G. Lyng. 2014. The effect of ultrasonic salting on protein and water-protein interactions in meat. Food Chem. 147: 245-251.
- Mukhopadhyay, S. y R. Ramaswamy. 2012. Application of emerging technologies to control *Salmonella* in foods: a review. Food Res. Int. 45:666-677.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-092-SSA1.1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- Pearce, K. L., K. Rosenvold, H. J. Andersen y D. L. Hopkins. 2011. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes — A review. Meat Sci. 89: 111–124.
- Peña-González, E.M., A.D. Alarcón-Rojo, A. Rentería, I. García, E. Santellano, A. Quintero y L. Luna. 2017. Quality and Sensory Profile of Ultrasound-Treated Beef. Ital. J. Food Sci. 29: 2017: 463-475.
- Piñon, M., A. Alarcon, L. Panywnyk, T. Mason, L. Luna y A. Renteria. 2018. Ultrasound for improving the preservation of chicken meat. Food Sci Technol En: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.026>. Consultado 28 de Mayo 2020.
- Piyasena, P., E. Mohareb y R. C. McKellar. 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: A review. Int. J. Food Microbiol. 87(3):207-216.
- Pohlman, F. W., M. E. Dikeman y D. H. Kropf. 1997. Effects of High Intensity Ultrasound Treatment, Storage Time and Cooking Method on Shear, Sensory, Instrumental Color and Cooking Properties of Packaged and Unpackaged Beef *pectoralis* Muscle. Meat Sci. 46: 89- 100.
- Sofos, J. N. 1994. Microbial growth and its control in meat and fish. In: Pearson, A.M. y T.R. Dutson, Quality attributes and their measurements in meat, poultry and fish products. London, Blackie Academic and Professional, 359-403.
- Tsai, T., y H. Ockerman. 1981. Water binding measurement of meat. Journal of Food Science 46(3):697-701.
- Turantaş, F., G. B. Kiliç, B. Kiliç. 2015. Ultrasound in the meat industry: General applications and decontamination efficiency. Int. J. Food Microbiol. 198: 59-69.

- Wang, A., D. Kang, W. Zhang, C. Zhang, Y. Zou, 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
- Warner, R. D. 2017. The eating quality of meat—IV water-holding capacity and juiciness. En *Lawrie's Meat Science*. 8va Ed. Woodhead Publishing.
- Woraprayote, W., Y. Malila, S. Sorapukdee, A. Swetwivathana, S. Benjakul, W. Visessanguan. 2016. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Sci.* 120: 118- 132.
- Zou, Y., W. Zhang, D. Kang, G. Zhou. 2018. Improvement of tenderness and water holding capacity of spiced beef by the application of ultrasound during cooking. *Int. J. Food Sci. Technol.* 53:828-836.