



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**APLICACIÓN DE ALTAS PRESIONES ISOSTÁTICAS (API) COMO  
MÉTODO DE CONSERVACIÓN DE CARNE Y PRODUCTOS  
CÁRNICOS**

**TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**MELISSA ASSAD BUSTILLOS**



**MÉXICO, D.F.**

**AÑO 2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Ma. de los Ángeles Valdivia López

**VOCAL:** Alberto Tecante Coronel

**SECRETARIO:** Ma. del Carmen Wachter Rodarte

**1<sup>er</sup> SUPLENTE:** Norma Angélica Camacho de la Rosa

**2<sup>o</sup> SUPLENTE:** Mariana Ramírez Gilly

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Laboratorio 313, Conjunto E, Facultad de Química, UNAM.

## **ASESOR DEL TEMA:**

Dr. Alberto Tecante Coronel

---

## **SUSTENTANTE:**

Melissa Assad Bustillos

---

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS .....	3
ÍNDICE DE TABLAS.....	4
RESUMEN.....	5
GLOSARIO.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
OBJETIVOS .....	9
METODOLOGÍA.....	9
ANTECEDENTES .....	10
<b>Capítulo 1. La carne y los productos cárnicos .....</b>	<b>12</b>
1.1 Definición de carne y productos cárnicos .....	12
1.1.1 Definición de carne .....	12
1.1.2 Definición de productos cárnicos .....	12
1.2 Estructura y composición química de la carne.....	14
1.2.1 Breve descripción de los cambios post mortem.....	18
1.2.2 Importancia nutricional de la carne y de los productos cárnicos.....	19
1.2.3 Principales proteínas que constituyen la carne.....	21
<b>Capítulo 2. Microbiología de la carne .....</b>	<b>24</b>
2.1 Deterioros más frecuentes de la carne .....	24
2.1.1 Deterioro causado por microorganismos .....	24
2.1.2 Otras causas de deterioro .....	33
2.2 Microorganismos patógenos de la carne .....	34
<b>Capítulo 3. Altas presiones isostáticas (APIs).....</b>	<b>40</b>
3.1 Aspectos generales de las APIs .....	40
3.1.1 Definición de la API .....	40
3.1.2 Fundamento.....	40
3.1.3 Generación de API .....	41
3.1.4 Equipo comercial .....	42
3.1.5 Economía y costo de la aplicación de API.....	44
3.2 Aplicación de las altas presiones como método de conservación en carne y productos cárnicos. ....	45

3.2.1 Descripción del proceso .....	45
3.2.2 Cambios en la estructura y los componentes de la carne como consecuencia de la aplicación de API. ....	47
3.2.3 Efecto de la API sobre las características sensoriales de la carne y los productos cárnicos .....	53
3.2.4 Efecto de la API sobre el valor nutrimental.....	59
3.2.5 Efecto de la API sobre los microorganismos de la carne.....	60
3.2.6 Efecto de la API en la vida de anaquel de la carne y los productos cárnicos ..	67
<b>Capítulo 4. Oportunidades y retos del uso de API en la industria cárnica .....</b>	<b>67</b>
4.1 Aplicaciones en la conservación de carne y productos cárnicos .....	68
4.1.1 Pasteurización mediante API.....	68
4.1.2 Esterilización comercial mediante API.....	72
4.1.3 Ejemplo práctico de integración de la API en la industria .....	74
4.2 Otras aplicaciones .....	75
4.2.1 Ablandamiento de la carne .....	75
4.2.2 Re-estructuración de productos cárnicos .....	76
4.2.3 Congelación y descongelación .....	76
CONCLUSIONES.....	77
REFERENCIAS .....	78
ANEXO.....	86

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la organización de los tejidos muscular y conectivo.....	15
Figura 2. Estructura de una fibra muscular.....	16
Figura 3. Unidad estructural del sarcómero.....	16
Figura 4. Esquema que ilustra la estructura de las proteínas.....	21
Figura 5. Color de la mioglobina en sus diferentes estados de oxidación.....	23
Figura 6. Carne de bovino en estado de descomposición avanzado.....	25
Figura 7. Ejemplo de producción de aminas biógenas por descarboxilación bacteriana .....	28
Figura 8. Aminoácidos precursores de aminas biógenas y sus productos.....	28
Figura 9. Carne alterada por el crecimiento de mohos.....	33
Figura 10. Generación directa de presión.....	41
Figura 11. Generación indirecta de presión.....	42
Figura 12. Cierre de seguridad de una cámara de presión.....	43
Figura 13. Equipo de API a escala industrial.....	44
Figura 14. Equipo de API a escala de laboratorio.....	45
Figura 15. Diagrama simplificado del procesado de alimentos por API.....	46
Figura 16. Efecto de la API en los valores de $L^*$ y $a^*$ en jamón curado.....	55
Figura 17. Efecto de la API sobre el color de la carne fresca y la carne congelada.....	56
Figura 18. Efecto de la API sobre la carne presurizada después del freído.....	56
Figura 19. Efecto de la API sobre productos cárnicos de res, cocidos-curados, cocidos, y crudos.....	57
Figura 20. Esquema simplificado de la estructura de una espora bacteriana.....	61
Figura 21. Efecto sinérgico generalizado de temperatura y presión sobre la inactivación de esporas bacterianas.....	63
Figura 22. Ejemplos de las desviaciones de “hombro” y “cola” en la inactivación de microorganismos.....	65

Figura 23 .Comportamiento de <i>L. monocytogenes</i> en jamón cocido sometido a API o no almacenado a 6 °C y 1 °C.....	69
Figura 24. Ejemplo de productos pasteurizados mediante API.....	71
Figura 25. Comparación del proceso tradicional con el proceso novedoso por API para la producción de salchichas de hígado.....	74

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química típica (% m/v) de la carne roja magra después de la rigidez cadavérica.....	17
Tabla 2. Comparación de los principales nutrimentos necesarios en la dieta de adultos con la Ingesta Diaria Recomendada (IDR).....	20
Tabla 3. Bacterias que intervienen en la alteración superficial de la carne refrigerada.....	30
Tabla 4. Microorganismos principales y secundarios responsables y tipo de alteración de la carne no envasada (atmósfera de aire) y envasada al vacío y en atmósferas modificadas.....	32
Tabla 5. Ejemplos de compañías que han adoptado el uso de API para la pasteurización de los productos cárnicos.....	70
Tabla A. Composición nutricional y energética por 100 g de porciones magras de carne de distintas especies animales.....	ANEXO
Tabla B. Composición nutricional y energética por 100 g de porciones comestibles de algunos productos cárnicos.....	ANEXO
Tabla C. Nivel de reducción de los principales microorganismos patógenos de la carne.....	ANEXO
Tabla D. Nivel de reducción obtenido en la flora alterante de la carne.....	ANEXO
Tabla E. Compilación de estudios recientes sobre los efectos de la API en las características de la carne .....	ANEXO
Tabla F. Compilación de estudios recientes sobre los efectos de la API en las características de los productos cárnicos.....	ANEXO
Tabla G. Ejemplos de productos pasteurizados mediante API en el mercado, condiciones de proceso y resultados.....	ANEXO

## **RESUMEN**

En este trabajo se presenta una compilación y análisis de la información más reciente y relevante sobre el tema de la conservación de la carne y los productos cárnicos mediante la aplicación de Altas Presiones Isostáticas (API). Se describen los principales factores que influyen en su uso, así como los cambios químicos, bioquímicos y microbiológicos que se producen en dichos productos como consecuencia de su aplicación. También se incluye un análisis del estado actual de la aplicación comercial de API en cárnicos para evaluar su uso rutinario como tecnología de conservación.

A partir de la investigación realizada, se concluye que la API es un tratamiento efectivo para controlar la carga microbiana en carne y en productos cárnicos, además de proporcionar otros beneficios como la retención de nutrientes y características sensoriales y extender la vida de anaquel. Sin embargo, debido a los efectos secundarios que se pueden presentar como consecuencia de su uso, como la decoloración y la aceleración de la oxidación de lípidos, aún se requieren investigaciones que permitan comprender mejor dichos fenómenos para identificar los factores y condiciones que intervienen y proponer posibles soluciones. En la actualidad es posible pasteurizar los productos cárnicos, y el principal reto que afronta la API es desarrollar y validar un procedimiento eficaz para lograr la esterilización comercial.

## **GLOSARIO**

*Adhesividad:* Es la fuerza requerida para remover una muestra de alimento del paladar usando la lengua (Nollet, 2012)

*Capacidad de retención de agua (CRA):* Cantidad máxima de agua que pueden retener las proteínas cárnicas sin que haya liberación de líquido. Se expresa generalmente como mL de agua retenida/100g de carne (Totosaus, 2006; Zayas, 1997).

*Capacidad emulsionante (CE):* Cantidad máxima de grasa que pueden emulsionar las proteínas cárnicas sin que se produzca coalescencia. Se expresa como mL de aceite o grasa/10 g de carne (Totosaus, 2006; Zayas, 1997).

*Capacidad gelificante:* Habilidad de formar un gel. Es el resultado de la agregación y desplegamiento de las proteínas cárnicas inducido por la desnaturalización de las mismas (Totosaus, 2006).

*Dureza:* En evaluación sensorial, corresponde a la fuerza requerida para romper una muestra semi-sólida usando únicamente los molares (Nollet, 2012)

*Fibrosidad:* Es la percepción de un tamaño de partícula grande y alargado. Es lo opuesto a granulosidad (Nollet, 2012)

*Fuerza del gel:* Es la máxima deformación que resiste un gel antes de romperse. Se expresa en  $\text{g/cm}^2$ ,  $\text{lb/sq ft}$  o  $\text{dyn/cm}^2$  (Zayas, 1997).

*Gomosidad:* Es la energía requerida para desintegrar una muestra de alimento usando la lengua (Nollet, 2012)

*Jugosidad:* Es la sensación que se produce en la boca por una muestra de alimento que libera agua durante la masticación (Nollet, 2012).

*Masticabilidad:* Es la energía requerida para masticar una muestra de alimento. Se evalúa el esfuerzo requerido para masticar la muestra a una velocidad de 1 masticación/segundo (Nollet, 2012).

*Terneza:* Es la facilidad con la que se corta la carne usando los dientes durante la masticación (Nollet, 2012).

## INTRODUCCIÓN

La demanda del consumidor por productos frescos, mínimamente procesados y de alta calidad y al mismo tiempo inocuos, ha generado la necesidad de implementar nuevas tecnologías para procesar y conservar los alimentos (Hendrickx & Knorr, 2002). El procesamiento de alimentos por altas presiones isostáticas (API) constituye una gran innovación tecnológica en la historia de la conservación de alimentos (Doona & Feeherry, 2007) y ha tomado mucha importancia en los últimos años debido a las ventajas en la inactivación de microorganismos y de enzimas sin necesidad de aplicar un tratamiento térmico ni de adicionar conservadores (Barbosa-Cánovas, Pothakamury, Palou & Swanson, 1999).

Tradicionalmente, los alimentos son sometidos a temperaturas entre 60 y 100 °C durante pocos segundos para garantizar su inocuidad microbiológica, por medio de una considerable transferencia de energía, la cual puede provocar reacciones indeseables y dar lugar a cambios no deseados o a la formación de subproductos. Por otro lado, en la congelación, otro de los tratamientos más utilizados actualmente para conservar y almacenar alimentos, ocurren cambios indeseables como la desecación superficial y daño en la estructura celular debido a la formación de cristales, que en su conjunto son responsables de los cambios en la textura y del aumento en la cantidad de líquido exudado durante la descongelación, entre otros efectos adversos (Moreno-García, 2006). Así, el uso de API tiene como objetivo producir alimentos microbiológicamente seguros, y minimizar la degradación de su calidad que resultaría del procesado térmico (Barbosa-Cánovas et al., 1999).

Asimismo, tomando en cuenta que los microorganismos son no sólo los causantes principales de las enfermedades transmitidas por los alimentos, sino también la causa más importante de su alteración, ya sea a temperatura ambiente o en refrigeración; tanto en atmósfera de aire, como al vacío y en atmósferas modificadas, la API permite obtener productos con una mayor vida de anaquel (Moreno-García, 2006). Adicionalmente, debido a las acciones específicas que produce la API sobre las macromoléculas y los constituyentes de los alimentos, es posible crear ingredientes y productos con características novedosas (Hendrickx & Knorr, 2002).

Además de los beneficios antes mencionados y de la capacidad de inactivar células vegetativas de microorganismos, se ha demostrado que la aplicación de API también posee la capacidad de inactivar, bajo ciertas condiciones de temperatura, las esporas de microorganismos como *Clostridium botulinum* en alimentos (Doona & Feeherry, 2007). La posibilidad de obtener la esterilización comercial mediante la aplicación de API es objeto de análisis y discusión en el presente trabajo.

El propósito principal de este trabajo es compilar la información publicada en la literatura científica sobre los conocimientos y avances en el uso de API, que abarque principalmente los pasados cinco años, de manera que pueda ser utilizada como referencia y punto de partida para futuras investigaciones que lleven al desarrollo y comercialización de alimentos, particularmente carne y productos cárnicos, procesados con esta tecnología de tratamiento mínimo.

En el caso de la carne y los productos cárnicos las aplicaciones de la API son diversas y no sólo se centran en la conservación; las investigaciones también apuntan hacia otros usos como el ablandamiento de la carne, la modificación de su textura y de las propiedades funcionales de sus proteínas e incluso a la aplicación de API para optimizar la congelación y la descongelación (Barbosa-Cánovas et al., 1999). No es el objetivo de este trabajo explicar a profundidad dichos temas; sin embargo, se mencionan de manera breve y general con la idea de proporcionar un panorama acerca del estado actual del uso y aplicación de la API en carne y en productos cárnicos.

Este trabajo está dividido en cuatro capítulos. El primer capítulo trata sobre la carne, su composición química, su estructura y su importancia nutricional. En el segundo capítulo, se discute la microbiología de la carne y se abordan las principales causas de su deterioro y los microorganismos responsables, así como los principales patógenos de relevancia en este alimento. En el tercer capítulo, se introduce el concepto de API y se describen sus efectos sobre la carne y los productos cárnicos, su estructura y sus propiedades sensoriales. En el mismo capítulo, también se describe el efecto de la API sobre los microorganismos y los factores que influyen en su inactivación. Por último, en el capítulo cuatro se presentan las aplicaciones

actuales de la API en carne y en productos cárnicos, principalmente con fines de conservación.

## **OBJETIVOS**

- Revisar los avances recientes sobre la aplicación de altas presiones isostáticas (API) como método de conservación en carne y productos cárnicos para conocer los factores que participan e influyen en el uso de esta tecnología de tratamiento mínimo.
- Describir los efectos de la aplicación de API sobre la carne y los productos cárnicos para conocer los cambios químicos, bioquímicos, microbiológicos y sensoriales que surgen como consecuencia del uso de esta tecnología.
- Analizar el estado actual de aplicación comercial de API en carne y productos cárnicos para evaluar su uso rutinario como tecnología para la conservación de carne y productos cárnicos.

## **METODOLOGÍA**

Se hizo una revisión bibliográfica exhaustiva principalmente en libros, artículos científicos, revistas indizadas de renombre y páginas de internet fidedignas. Las principales fuentes de información consultadas fueron:

- *Meat Science*
- *European Food Research and Technology*
- *Food Chemistry*
- *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie.*
- *Innovative Food Science and Emerging Technology*
- *International Journal of Food Microbiology*
- *Journal of Food Engineering*

Se revisó, identificó, clasificó y analizó la información más relevante de los últimos veinte años y se hizo énfasis en las publicaciones más recientes, principalmente de 2008 en adelante.

## ANTECEDENTES

El procesamiento por API ha sido investigado desde principios del siglo pasado. Científicos como Hite y Bridgman fueron los pioneros al final del siglo XIX y al inicio del siglo XX, respectivamente (Hendrickx & Knorr, 2002). Hite, en 1899, demostró la efectividad del tratamiento por API contra un amplio espectro de microorganismos en la leche, mientras que Bridgman, en 1914, observó que un huevo crudo podía ser coagulado mediante la aplicación de una presión de 70 MPa durante 30 min (Ledward, Johnston, Earnshaw & Hasting, 1995). En 1932, Basset y Macheboeuf reportaron sobre la sensibilidad de varios microorganismos y compuestos biológicos a la alta presión y mostraron que era imposible destruir a las esporas de *Bacillus subtilis* por completo a temperatura ambiente, aun bajo presiones de 1700 MPa durante 45 min (Bertucco & Spilimbergo, 2001). Después de eso, las investigaciones fueron abandonadas debido a que se consideraba que la tecnología no era comercialmente factible, ya que el obstáculo principal era la complejidad para construir equipos capaces de generar las presiones necesarias, además de que la tecnología de la época no era lo suficientemente avanzada y no permitió obtener información certera sobre las cinéticas de inactivación, la tolerancia a la presión, el daño celular y otros aspectos. de los diferentes microorganismos examinados (Ledward et al., 1995). Fue hasta 1970 que Hite y sus colaboradores decidieron retomar el tema y publicaron un documento que reavivó el interés por la posibilidad de eliminar microorganismos mediante el uso de API (Ledward et al., 1995). Las investigaciones fueron retomadas por otros científicos en Estados Unidos de Norteamérica y Japón principalmente (Hendrickx & Knorr, 2002) al final de la década de 1980 y principios de los 90 y se lograron numerosos avances en la comprensión del fundamento de esta tecnología. Al mismo tiempo, se desarrollaron equipos industriales para procesar plásticos, cerámica y metales, los cuales ya contaban con la tecnología y la capacidad de trabajar a las presiones del orden requerido, por lo que la disponibilidad del equipo industrial dejó de ser un problema.

En 1989 fue inaugurada una unidad especial en Japón, la cual agrupó al Ministerio de Agricultura Pesca y Recursos Forestales de ese país, junto con 21 empresas de la industria alimentaria, dedicadas a la investigación y el desarrollo de la aplicación de esta tecnología. A pesar de los avances logrados, se reconoció la necesidad de desarrollar nuevos métodos y continuar con las investigaciones para profundizar el

conocimiento y dar respuesta a las interrogantes aún sin resolver (Hendrickx & Knorr, 2002). En Europa, los primeros grupos que comenzaron a estudiar esta tecnología surgieron a partir del congreso celebrado en La Grand Motte, Francia, en 1992 (Ordóñez-Pereda, Zurera-Cosano, Bosch-Navarro, Otero-Carballeira & Guamis-López, 2004).

En 1990, Meidi-Ya Food Company® en Japón, introdujo los primeros productos tratados por API, los cuales fueron una variedad de mermeladas y jaleas de fresa, kiwi y manzana con muy buen sabor (Bertucco & Spilimbergo, 2001). Desde 1993, la gama de productos tratados con esta tecnología ha crecido en gran medida. Actualmente ya se encuentran disponibles productos comerciales tales como frutas, vegetales, jugos de frutas, salsas, postres, mariscos (Hendrickx & Knorr, 2002) y desde 1994 la compañía Echigo-Seika® ha producido y comercializado productos listos para comer a base de arroz, conocidos como *yomagi-mochi* (Bertucco & Spilimbergo, 2001).

La industria cárnica no ha sido la excepción, ya que también existen algunas compañías que han comenzado a implementar la aplicación de API en sus productos. Espuña®, empresa Española, por ejemplo, fue pionera en el uso esta tecnología para dar mayor seguridad y vida de anaquel al jamón cocido empacado al vacío y a otros productos cárnicos como las “tapas” de carne (Kerry, Kerry & Ledward, 2002).

## Capítulo 1. La carne y los productos cárnicos

### 1.1 Definición de carne y productos cárnicos

#### 1.1.1 Definición de carne

La carne es la estructura compuesta por fibra muscular estriada, acompañada o no de tejido conjuntivo elástico, grasa, hueso, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos de las especies animales autorizadas para el consumo humano (NOM-030-ZOO-1995). Dichas especies son los bóvidos, óvidos, suidos, cápridos, équidos y camélidos sanos, por mencionar los más comunes.

Es importante mencionar que la musculatura esquelética de los animales sufre, tras su sacrificio y hasta su consumo como carne, una serie de transformaciones fundamentalmente de carácter físico-químico, bioquímico y estructural. Dichas transformaciones incluyen una primera fase de instauración del *rigor mortis* y otra de maduración posterior de duración muy variable. El desarrollo *post mortem* de ambos procesos determina en gran medida la calidad de la carne; tanto sus cualidades sensoriales como su aptitud tecnológica para elaborar productos cárnicos (Rodríguez-Rivera, 2008).

#### 1.1.1.1 Clasificación de la carne

Las carnes se pueden clasificar en dos grupos según el color:

- a) *Carne roja*, incluye principalmente la de bovino, porcino y ovino de diferentes razas.
- b) *Carne blanca*, que es en general la carne de las aves (Sánchez-Basurto, 2012).

#### 1.1.2 Definición de productos cárnicos

Los cortes de menor valor agregado, sobrantes y recortes son frecuentemente aprovechados para fabricar una variedad de productos más atractivos y de mayor valor comercial, los cuales son sometidos a operaciones específicas para su conservación antes de la puesta al consumo (Ledward et al., 1995; Rodríguez-Rivera, 2008). A dichos productos se les conoce como productos cárnicos.

Las propiedades funcionales de las proteínas del músculo son fundamentales en estos productos. Por ejemplo, la capacidad de formar una emulsión estable para el caso de las salchichas y algunos embutidos cocidos o la capacidad de ligar agua y cohesividad en productos reestructurados o jamón cocido (Ledward et al., 1995).

#### 1.1.2.1 Clasificación de los productos cárnicos

Desde el punto de vista tecnológico, son tres los grandes bloques en los que se pueden clasificar los productos cárnicos.

- a) *Los productos cárnicos crudos curados.* Son los sometidos a un proceso de maduración o desecación, ya sea picados y embutidos (chorizo, salchichón, salami, entre otros) o enteros (jamón curado, paleta curada, tocino, entre otros). El proceso de maduración consiste en someter a los productos a condiciones controladas de temperatura (10-20 °C) y de humedad relativa (75 - 95%) con el objeto de que ocurra la desecación, la reducción de pH hasta 4.5 - 5.9 como consecuencia del crecimiento de bacterias lácticas, la formación de la forma nitrosada de la mioglobina, que es la responsable del color rosado de las carnes curadas, así como el desarrollo de las características sensoriales finales como consecuencia de procesos de proteólisis y lipólisis. En este tipo de productos a menudo confluyen varios procesos que contribuyen a la conservación del producto como el salado, la desecación, la presencia de especias, el ahumado, la fermentación, entre otros.
  
- b) *Los productos cárnicos tratados por calor.* Son los obtenidos por tratamiento térmico, ya sea picados y embutidos (salchichas tipo Frankfurt, mortadela, entre otros) o enteros (jamón cocido) Este tratamiento es en general de pasteurización con temperaturas entre 60 - 80 °C, y sus principales objetivos son, además de garantizar la seguridad microbiológica del producto, conseguir la gelificación de las proteínas cárnicas y asegurar la forma nitrosada correspondiente de la mioglobina. Además, los productos cárnicos de ambos grupos tecnológicos (curados y cocidos) pueden someterse a un tratamiento opcional de ahumado que,

además de contribuir a la conservación, modifica las características sensoriales del producto final.

- c) *Los productos cárnicos frescos.* Son los preparados sin ser sometidos a ningún tratamiento. Pueden ser picados y embutidos (salchicha fresca, chorizo fresco, entre otros), únicamente picados (carne picada, hamburguesas, entre otros), o enteros (lomo adobado). El comportamiento de conservación de este tipo de productos es similar al de la carne fresca. (Rodríguez-Rivera, 2008).

## *1.2 Estructura y composición química de la carne*

Como se mencionó anteriormente, el músculo tiene una estructura muy compleja con muchos componentes y una igualmente compleja bioquímica involucrada en los cambios que se llevan a cabo para convertirse en carne. Dichos cambios se explicarán brevemente más adelante.

Las fibras, o células musculares se acomodan y se mantienen en su lugar por medio de componentes del tejido conectivo que actúan como envolturas divisorias (Fig. 1). Un músculo completo está rodeado por una funda de tejido conectivo que se denomina epimisio. El tejido conectivo se interna en el músculo dando lugar a otro nivel de este tejido denominado perimisio que divide al músculo en grupos de fibras denominados haces o fascículos. A su vez, cada fibra está rodeada por un tejido llamado endomisio. Toda esta estructura ofrece al músculo soporte y organización, y sirve para conducir el abastecimiento vascular y nervioso hacia y desde él (Rodríguez-Rivera, 2008).

Las células del músculo esquelético, también llamadas fibras musculares (Fig.2), son cilíndricas muy alargadas, presentan varios núcleos que se sitúan en la periferia y que tienen una membrana celular denominada sarcolema. Estas a su vez están formadas por las miofibrillas, las cuales se componen de filamentos gruesos y filamentos delgados.

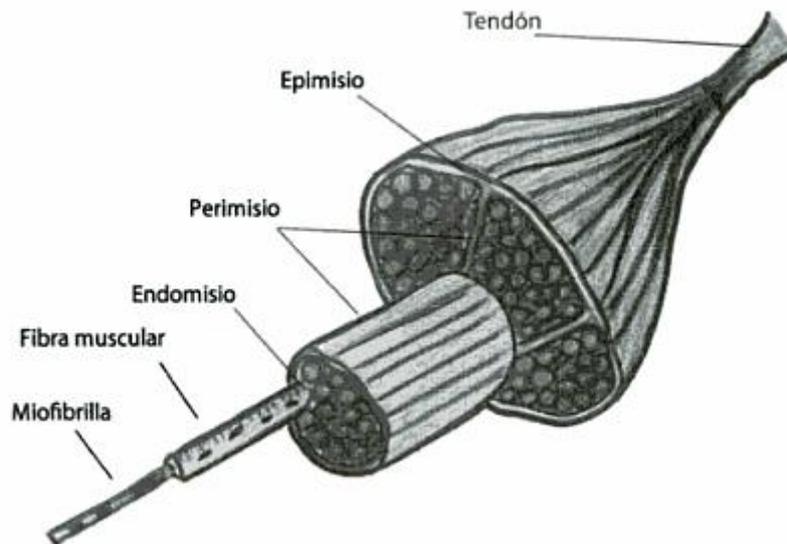


Figura 1. Estructura de la organización de los tejidos muscular y conectivo (Rodríguez-Rivera, 2008).

Los filamentos gruesos están formados principalmente por la miosina. Los filamentos delgados corresponden a microfilamentos de actina. La apariencia estriada característica del músculo se debe a la distribución repetitiva de las proteínas en las miofibrillas (Fig. 3):

- a) *Las bandas A*, reciben su nombre por ser anisotrópicas u oscuras, debido a que están formadas por el traslape de los filamentos gruesos con los delgados.
- b) *Las bandas I*, llamadas así por ser isotrópicas o claras, están compuestas de filamentos delgados.
- c) *La línea Z* se localiza en el centro de cada banda I (*Zwischen* en alemán significa “entre”).
- d) *La zona H* es la parte central de cada banda A.
- e) *La línea M*, es la línea oscura en el centro de la zona H. A nivel de la línea M cada filamento grueso se asocia con seis filamentos gruesos adyacentes, a través de puentes proteínicos.

(Damodaran, Parkin & Fennema, 2008)

La unidad estructural de las células musculares estriadas es la que va de una línea Z a otra y se denomina sarcómero (Figs. 2 y 3), y este, al igual que las bandas, se repite a lo largo de las miofibrillas (Guillermo-Chávez, 2011; Sánchez-Basurto, 2012).

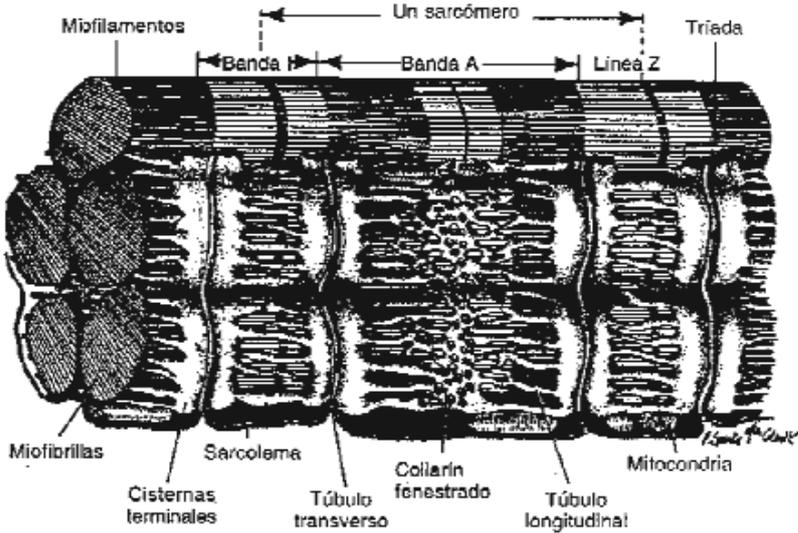


Figura 2. Estructura de una fibra muscular (Fennema, 2000)

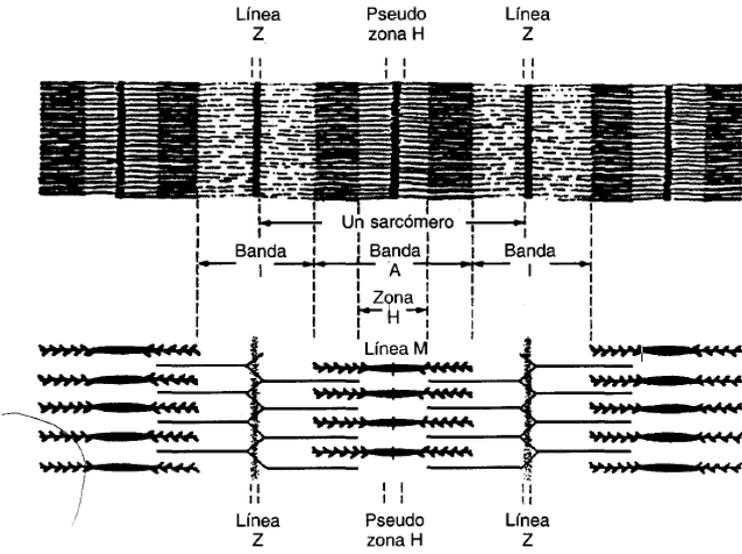


Figura 3. Unidad estructural del sarcómero (Fennema, 2000).

La composición química y nutricional de la carne puede variar debido a diversos factores entre los que cabe destacar la especie animal, el corte (piezas o músculos) y su procesado (Tabla A, Anexo). Además, dentro de cada especie existen

variaciones dependiendo de la raza, la edad o la alimentación entre otros factores (Rodríguez-Rivera, 2008).

El agua es el componente más abundante de la carne, con una representación media de 75% (Tabla 1), y cuyo contenido está inversamente relacionado con el contenido de grasa. El contenido en agua determina la jugosidad y la capacidad de retención de agua de la carne, parámetro que juega un papel muy importante en sus propiedades tecnológicas. El contenido medio de proteína es próximo a 20%, y la calidad de estas proteínas es muy alta debido a los tipos y las proporciones de aminoácidos que las componen. El porcentaje de grasa intramuscular de la carne es relativamente constante en las diferentes piezas magras de consumo procedentes de diversas especies animales. El porcentaje de ácidos grasos saturados está próximo a 38%, siendo la de mayor contenido la carne de cordero y la de menor contenido la carne de pollo. Respecto a los ácidos grasos poliinsaturados, contienen una proporción media próxima a 16%, y destacan la carne de conejo y la de pollo con las proporciones más elevadas (Rodríguez-Rivera, 2008).

Tabla 1. Composición química típica (% m/v) de la carne roja magra después de la rigidez cadavérica (Moreno-García, 2006).

Proteínas	20.0	Productos del ATP	0.3
Lípidos	3.0	Glucógeno	0.1
L(+) ácido láctico	0.9	Azúcares	0.1
Aminoácidos	0.4	Azúcares fosfato	0.1
Creatina	0.5	Nicotinamida	0.3
Anserina/Carnosina	0.3	Nucleótidos	0.3
Agua	75.0		

Por otra parte, los productos cárnicos tienen una composición más heterogénea (Tabla B, Anexo). La composición bruta de los productos cárnicos difiere sustancialmente de la de la carne magra. En general, lo más destacado es su mayor contenido en grasa, esencial por las características sensoriales y funcionales que aporta. La grasa se utiliza como segundo ingrediente más importante cuantitativamente en la elaboración de los productos cárnicos, y por lo tanto, estos

productos suelen tener un menor contenido en agua y de proteínas. Por la misma razón, son productos bastante más energéticos que la carne magra. De manera general, los ácidos grasos son mayoritarios y están presentes en cantidades muy semejantes (Rodríguez-Rivera, 2008).

#### 1.2.1 Breve descripción de los cambios post mortem

El desarrollo del *rigor mortis*, el cual constituye la primera etapa de transformación del músculo en carne, comienza inmediatamente después del sacrificio de los animales y constituye un estado de contracción póstumo (Ledward et al., 1995). El resultado final del metabolismo *post mortem* en esta fase es la desaparición del adenosín trifosfato (ATP) acompañada de la disminución de pH hasta 5.4 - 5.6 por acumulación de ácido láctico, y la aparición de la rigidez muscular característica de la instauración del *rigor mortis* (Rodríguez-Rivera, 2008).

Posteriormente ocurre la resolución del *rigor mortis* o maduración, en la cual ocurren los cambios más importantes que convierten al músculo en carne. En ella se producen una serie de fenómenos que repercuten positivamente tanto en las características sensoriales como en su aptitud tecnológica (Rodríguez-Rivera, 2008). Durante esta etapa ocurre la modificación de las proteínas miofibrilares; actina y miosina, la fragmentación de las miofibrillas en segmentos, debido a la desintegración de las líneas Z del sarcómero, la ruptura de la red de conectina, una proteína elástica en las miofibrillas, y otras alteraciones en el tejido conectivo. Durante este proceso la terneza y el sabor de la carne mejoran notoriamente (Ledward et al., 1995). Asimismo, se produce un ligero incremento de pH y en consecuencia de la capacidad de retención de agua, un ablandamiento progresivo de la carne y el desarrollo del aroma y del sabor característicos como consecuencia de la actuación de proteasas endógenas (Rodríguez-Rivera, 2008).

Las catepsinas o proteasas lisosomales ácidas degradan las proteínas como la miosina y la actina y son liberadas de los lisosomas debido a la ruptura de las membranas celulares provocada por el descenso de pH. Se han identificado 13 enzimas lisosomales, de las cuales solo siete se han reportado en el tejido muscular (A-J) (Sánchez-Basurto, 2012). Las calpaínas son otro tipo de proteasas dependientes del  $\text{Ca}^{2+}$  las cuales, a diferencia de las catepsinas, tienen una

actividad máxima a pH de 6.6 - 6.8, por lo que se cree que actúan principalmente durante la etapa pre-rigor de la carne. El ablandamiento post mortem es la consecuencia de la ruptura de la estructura de las miofibrillas y de los filamentos intermediarios causada por estos sistemas de enzimas (Damodaran et al., 2008).

#### 1.2.1.1 Defectos de la carne (DFD y PSE)

El pH post-mortem de la carne está determinado por la cantidad de ácido láctico producida por la hidrólisis anaerobia del glucógeno. Cuando el animal se encuentra fatigado, mal alimentado, bajo tensión o maltrato ocurren los denominados defectos de la carne. Una rápida acidificación, cuando la temperatura corporal es aún elevada, provoca la desnaturalización proteínica y reduce la solubilidad y la retención de agua. Esto le da a la carne una apariencia pálida, suave y exudativa (PSE). El fenómeno opuesto, en el cual el pH no disminuye debido a una baja reserva de glucógeno, genera una carne oscura, firme y seca (DFD, por sus siglas en inglés) (Sánchez-Basurto, 2012). El pH final de la carne, y por lo tanto, su naturaleza DFD o PSE son determinantes para su resistencia al crecimiento microbiano (Lawrie, 1998).

#### 1.2.2 Importancia nutricional de la carne y de los productos cárnicos

En la carne están presentes todos los aminoácidos esenciales para el ser humano y en las cantidades adecuadas. En general es un alimento poco energético y depende fundamentalmente de la cantidad de grasa que contenga. La carne comercial carece de hidratos de carbono debido a que la poca cantidad existente es utilizada en los procesos *post mortem* (Rodríguez-Rivera, 2008).

En la fracción lipídica se encuentra el colesterol cuyo contenido medio es próximo a 65.6 mg/100 g de carne; aunque esta concentración depende de la especie animal de proveniencia. En comparación con otros alimentos, la carne contiene cantidades importantes de hierro y fósforo, pero es pobre en calcio. Asimismo, el tejido muscular contiene cantidades relativamente altas de vitaminas del complejo B, especialmente B1, B2, B6, B12 y niacina. Otras vitaminas sólo están presentes en forma de trazas como la biotina y las vitaminas A, D, E y C (Tablas A y B, Anexo). Actualmente existe una fuerte tendencia a asociar el consumo de carne con enfermedades cardiovasculares, debido a que contiene grasa saturada y colesterol. Sin embargo, la

evidencia científica demuestra lo contrario. En realidad, la contribución de la carne con grasas saturadas es mínima en relación con la cantidad de nutrientes esenciales que aporta, los cuales ayudan a prevenir un gran número de enfermedades (McNeill & Van-Elswyk, 2012). Sin embargo, se debe crear conciencia en los consumidores, y mostrar que no sólo la carne, sino cualquier alimento, puede ser perjudicial si se consume en cantidades excesivas. La verdadera clave para prevenir enfermedades cardiovasculares y la obesidad está en la dieta y no en los alimentos *per se*.

Tabla 2. Comparación de los principales nutrimentos necesarios en la dieta de adultos con la Ingesta Diaria Recomendada (IDR) (INCMNZ, 2000).

IDR	Adultos (+18)	% del IDR en 100 g de carne	% del IDR en 100 g Jamón cocido
Proteína (g)	75	<b>27</b>	<b>25</b>
Hierro (mg)	15	<b>12</b>	<b>14</b>
Cobre (mg)	2	4	6
Zinc (mg)	15	<b>14</b>	<b>19</b>
Manganeso (mg)	5	0	0
Potasio (mg)	2700	12	10
Fósforo (mg)	800	<b>25</b>	<b>30</b>
Magnesio (mg)	350	6	5
Calcio (mg)	1000	1	1
Vit. B1 (mg)	1.5	<b>17</b>	<b>31</b>
Vit. B2 (mg)	1.7	11	11
Vit. B6 (mg)	2	<b>18</b>	10
Vit. B12 (mg)	2	<b>165</b>	-
Folato (pg)	200	3	10
Niacina (mg eq.)	19	<b>35</b>	<b>17</b>
Vit. A (µg eq.)	1000	-	-
Vit. C (mg)	60	-	-

En la Tabla 2 se muestran los nutrimentos básicos para conservar un adecuado estado de salud en el ser humano, así como su Ingesta Diaria Recomendada (IDR) y los porcentajes de esta que la carne y el jamón cocido aportan por 100 g de porción. Tanto la carne como el jamón cocido aportan una parte importante de la IDR de proteína, Hierro, Zinc, Fósforo y algunas vitaminas como la tiamina (B1), en el caso del jamón cocido, y la vitamina B12 en el caso de la carne. Por lo tanto, la carne es de gran importancia nutricional, ya que su consumo asegura el aporte de estos nutrientes a la dieta.

### 1.2.3 Principales proteínas que constituyen la carne

Como se mencionó anteriormente, las proteínas son uno de los componentes mayoritarios de la carne y por ello es importante recordar su estructura y su organización, así como mencionar a las principales proteínas presentes en la carne, junto con una breve descripción de sus características y de su función.

#### 1.2.3.1 Estructura general de las proteínas

Las proteínas constan de cuatro niveles de organización (Fig. 4), el primero de ellos es la estructura primaria, o sea la secuencia de aminoácidos en la cadena polipeptídica, la cual se encuentra estabilizada por enlaces covalentes peptídicos. El segundo nivel, llamado estructura secundaria, está formado por los puentes de hidrógeno entre las cadenas peptídicas. El tercer nivel o estructura terciaria está formado por un empaquetamiento específico de estructuras secundarias, en la mayoría de los casos de forma globular. Finalmente, varias estructuras terciarias pueden a su vez ensamblarse para formar la estructura cuaternaria. Las estructuras terciaria y cuaternaria se encuentran estabilizadas por interacciones hidrofóbicas o hidrostáticas, es decir no covalentes (Ledward et al., 1995).

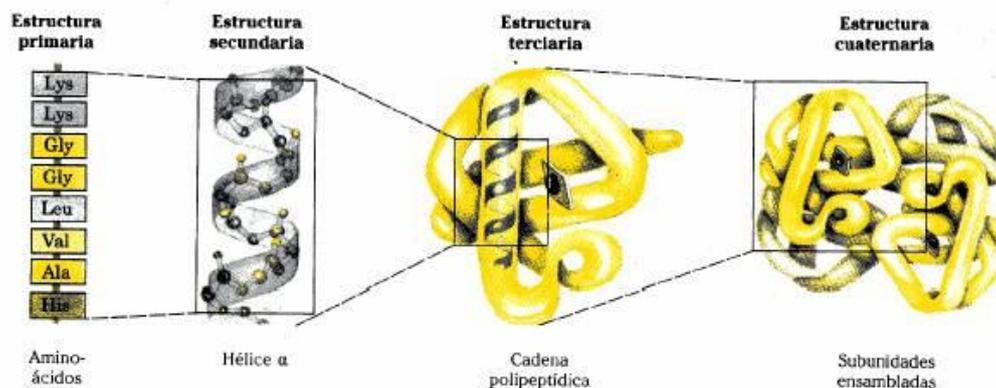


Figura 4. Esquema que ilustra la estructura de las proteínas ([Galeon.com](http://Galeon.com), sin año)

#### 1.2.3.2 Proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas

El músculo está conformado por dos tipos de proteínas; las miofibrilares o contráctiles, y las sarcoplásmicas. Las proteínas contráctiles clásicamente se han considerado solamente solubles en disoluciones salinas y no en agua. Por otro lado, las proteínas sarcoplásmicas son solubles en agua y en disoluciones de sales inorgánicas.

Las proteínas contráctiles participan en el proceso físico de la contracción muscular, y se encuentran dentro del sarcómero. Las más importantes son la actina, la miosina, la tropomiosina, y la troponina.

a) *Miosina*. Forma aproximadamente 50% de las proteínas miofibrilares y está compuesta por dos cadenas pesadas y cuatro ligeras. Las dos cadenas pesadas forman la cola y tienen una estructura fibrilar. Las cadenas ligeras forman la cabeza y tienen una estructura globular.

b) *Actina*. Constituye 25% de las proteínas fibrilares. Está integrada por filamentos que se denominan F-actina, los cuales se forman por los monómeros de G-actina.

c) *Tropomiosina*. Constituye entre 8 y 12% de las proteínas miofibrilares. Tiene una estructura fibrilar y forma parte del filamento delgado sobre la actina y ocasionalmente se encuentra unida a ella.

d) *Troponina*. Está presente en un bajo porcentaje, es globular y se encuentra en los filamentos delgados a la altura de la unión de la tropomiosina con la actina. Está involucrada en procesos de regulación de la contracción muscular. (Damodaran et al., 2008; Guillermo-Chávez, 2011)

Las proteínas sarcoplásmicas forman alrededor de 30 a 35% del total de las proteínas del músculo, y se encuentran, como su nombre lo indica, en el citoplasma de las células musculares; el sarcoplasma. La más importante de estas es la mioglobina, la cual está constituida por una parte proteínica (globina) y por una parte no proteínica (grupo hemo), la cual es la responsable del color de la carne. Dependiendo de su estado de oxidación puede adoptar los colores púrpura, rojo cereza, rojo brillante y café (Fig. 5) (Kerry et al., 2002).

El colágeno es otra de las proteínas importantes, ya que es el principal componente del tejido conectivo, el cual forma parte de tendones, huesos, piel y cartílagos. Es una proteína fibrilar y de ella depende la dureza del músculo. Se considera que 10% de la proteína total del músculo es colágeno (Damodaran et al., 2008).

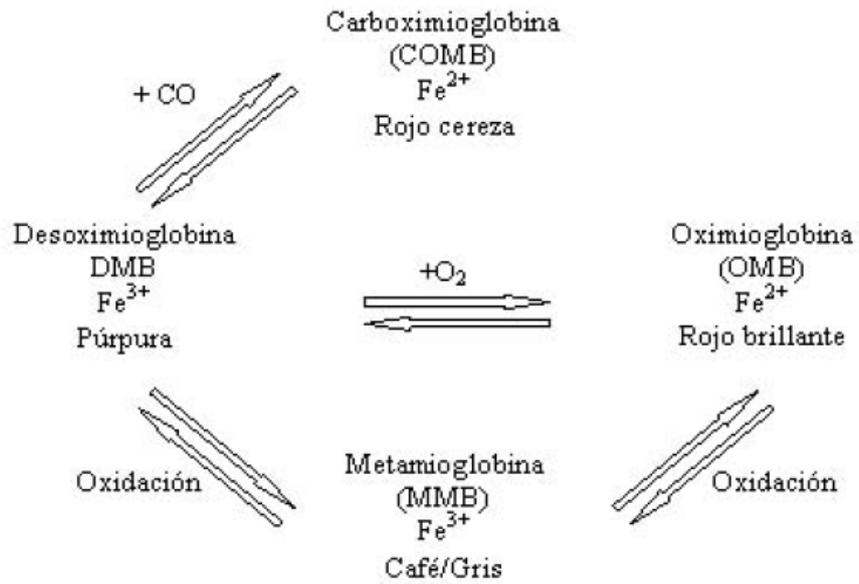


Figura 5. Color de la mioglobina en sus diferentes estados de oxidación (Sánchez-Basurto, 2012).

## Capítulo 2. Microbiología de la carne

### 2.1 Deterioros más frecuentes de la carne

#### 2.1.1 Deterioro causado por microorganismos

Por su elevada actividad de agua y su riqueza en nutrientes de fácil utilización, como iones metálicos y compuestos solubles de fósforo, así como un pH favorable, la carne es un excelente sustrato para el crecimiento de microorganismos y, por ello, un alimento muy perecedero. Además de los microorganismos, sus propias enzimas pueden llegar a alterarla, aunque la acción de los primeros es mucho más rápida que la de las segundas (Moreno-García, 2006).

El músculo es estéril por naturaleza, siempre que el animal esté sano (Lawrie, 1998); sin embargo, las canales se pueden contaminar superficialmente en el matadero y posteriormente durante el almacenamiento, transporte, despiece y venta (Moreno-García, 2006).

A temperatura ambiente (de 10 a 40 °C) ocurre la putrefacción rápidamente. Por encima de 20 °C pueden crecer los clostridios, responsables de la putrefacción profunda. También pueden desarrollarse los enterococos y las enterobacterias con rapidez. Es por ello, que si no se cuenta con la posibilidad de almacenarla en refrigeración, la carne debe ser consumida en las 6 -12 h posteriores a su venta.

Por debajo de 10 ° C la microbiota que se desarrolla es muy diversa. Ésta está constituida, principalmente, por bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, y los géneros *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella* y *Aeromonas* (Moreno-García, 2006). Por otro lado, algunos mohos pueden desarrollarse incluso a temperaturas de congelación.

De acuerdo con su intensidad y estado de avance, se distinguen dos niveles de descomposición o alteración microbiana: la alteración superficial y la putrefacción.

##### 2.1.1.1 Putrefacción

La putrefacción es un tipo de alteración de los tejidos profundos de la carne y de otros alimentos ricos en proteínas, producida por microorganismos anaerobios, que

se manifiesta por importantes modificaciones de los caracteres sensoriales como consecuencia de la degradación de los compuestos nitrogenados (Moreno-García, 2006). El crecimiento de anaerobios generalmente ocurre cuando el estado de descomposición es avanzado. Los procesos anaeróbicos producen menos energía, por lo que se necesita una mayor ruptura y penetración de los tejidos que las bacterias aerobias para que se lleve a cabo el crecimiento y reproducción de las bacterias (Lawrie, 1998).

Las modificaciones fundamentales se presentan a continuación, y se encuentran ilustradas por la Figura 6:

- a) Coloraciones anormales: gris, marrón, verdoso, entre otros.
  - b) Olor repulsivo: ácido, amargo, acre, amoniacal, sulfuroso, netamente putrefacto.
  - c) Textura anormal: ablandamiento tisular, a veces con producción de gas.
  - d) Reacción alcalina por predominio de sustancias básicas:  $\text{NH}_3$ , aminas, entre otras.
  - e) Microbiota abundante, con predominio de los clostridios.
- (Moreno-García, 2006).



Figura 6. Carne de bovino en estado de descomposición avanzado (Ver, Comer y Saber, 2011)

#### 2.1.1.2 Alteración superficial

Es un nivel de alteración menor al de la putrefacción y es producido por microorganismos aerobios en la superficie de la carne. La alteración superficial de la

carne a pH normal y en atmósfera de aire se manifiesta por un cambio de color, que se hace mate o apagado, aparición de olores anómalos y de una sustancia viscosa, denominada limo o limosidad constituida por los polisacáridos sintetizados por las bacterias (Moreno-García, 2006). La limosidad (*slime* en inglés) es el efecto superficial observable de la coalescencia de un número suficientemente elevado de colonias individuales de microorganismos. Entre menor sea la carga microbiana inicial de la carne, mayor será el tiempo que tarde en formarse la limosidad (Lawrie, 1998). La limosidad puede presentarse en forma de manchas de color grisáceo pegajosas en la superficie de la carne.

La alteración se hace aparente cuando la población microbiana alcanza cifras de  $10^7$ -  $10^8$  UFC/cm<sup>2</sup> en la superficie de la carne. El olor de la carne evoluciona gradualmente desde un olor inicial a carne fresca ( $<10^7$  UFC/g) a un olor no desagradable pero claramente no fresco, a un olor a lechería, mantequilla, grasa ( $10^8$ ), a un olor dulce, afrutado, y finalmente, a un olor pútrido ( $>10^9$ ) (Moreno-García, 2006).

#### 2.1.1.3 Cambios *post mortem* y putrefacción

Los cambios *post mortem* de la carne preparan el sustrato para la putrefacción. Como se mencionó anteriormente, después de la muerte del animal, la carne experimenta una serie de cambios bioquímicos que repercuten en sus caracteres sensoriales y también en sus aptitudes como sustrato para el crecimiento de los microorganismos.

Durante el *rigor mortis* el músculo es un mal sustrato, principalmente por el descenso de pH. El potencial redox (Eh) se hace negativo en las primeras horas (-250 mV), por lo que sólo van a poder desarrollarse en la profundidad de los tejidos las bacterias anaerobias o anaerobias facultativas. En la maduración, la carne se convierte en un excelente medio para el crecimiento de microorganismos, en primer lugar por el aumento de pH, debido a los cambios autolíticos de los componentes nitrogenados, con formación de sustancias básicas, y por el ablandamiento y jugosidad de los tejidos. En la superficie, el Eh positivo (+150 a +250 mV) favorece el crecimiento de las bacterias aerobias.

No obstante, durante la etapa pre-rigor, antes de que el Eh baje lo suficiente, pueden desarrollarse especies microaerófilas, primero enterococos y enterobacterias, y posteriormente *Clostridium perfringens*. Este último microorganismo utiliza los hidratos de carbono de la carne y produce CO<sub>2</sub>; como consecuencia los tejidos se ablandan y toman un aspecto esponjoso y de color gris, aunque no produce ningún olor pútrido. Otros clostridios como *C. sporogenes*, *C. bifermentans*, *C. histoliticum* y *C. oedemantiens*, pueden entonces atacar el tejido preparado por *C. perfringens*, al actuar sobre los aminoácidos y producir olores desagradables (Moreno-García, 2006).

#### 2.1.1.4 Producción de aminas y otros compuestos causantes de olores putrefactos

Los microorganismos responsables de la alteración no degradan las proteínas. Sólo cuando la alteración es avanzada, comienzan las acciones proteolíticas de las bacterias. Inicialmente, las proteínas de la carne no son atacadas por los microorganismos; éstos utilizan con mayor facilidad la glucosa, los aminoácidos libres y otras sustancias de bajo peso molecular. La carne puede presentar signos de alteración sin que se haya degradado una fracción significativa de la proteína (Moreno-García, 2006). Las proteínas sí se degradan, en cambio, durante la maduración de la carne por proteasas endógenas tisulares, lo cual no modifica desfavorablemente el sabor, pero sí aumenta el contenido de aminoácidos libres, los cuales son susceptibles al ataque de los microorganismos (Lawrie, 1998).

Los mecanismos principales de ataque a los aminoácidos son dos: desaminación y descarboxilación (Fig. 7). De las aminas producidas provienen los olores putrefactos y un aumento en el pH de la carne. Entre ellas figuran la cadaverina y la putrescina, las cuales, además de su olor fétido, se consideran tóxicas por vía digestiva (Moreno-García, 2006). En la Figura 8 se presentan algunos ejemplos de aminoácidos precursores de aminas biógenas por los mecanismos mencionados.

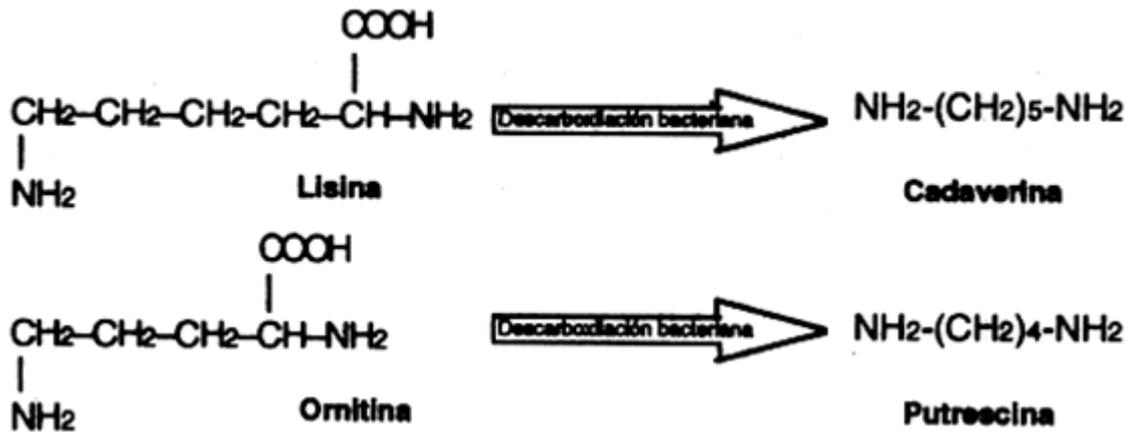


Figura 7. Ejemplo de producción de aminas biógenas por descarboxilación bacteriana (FAO, 1994)

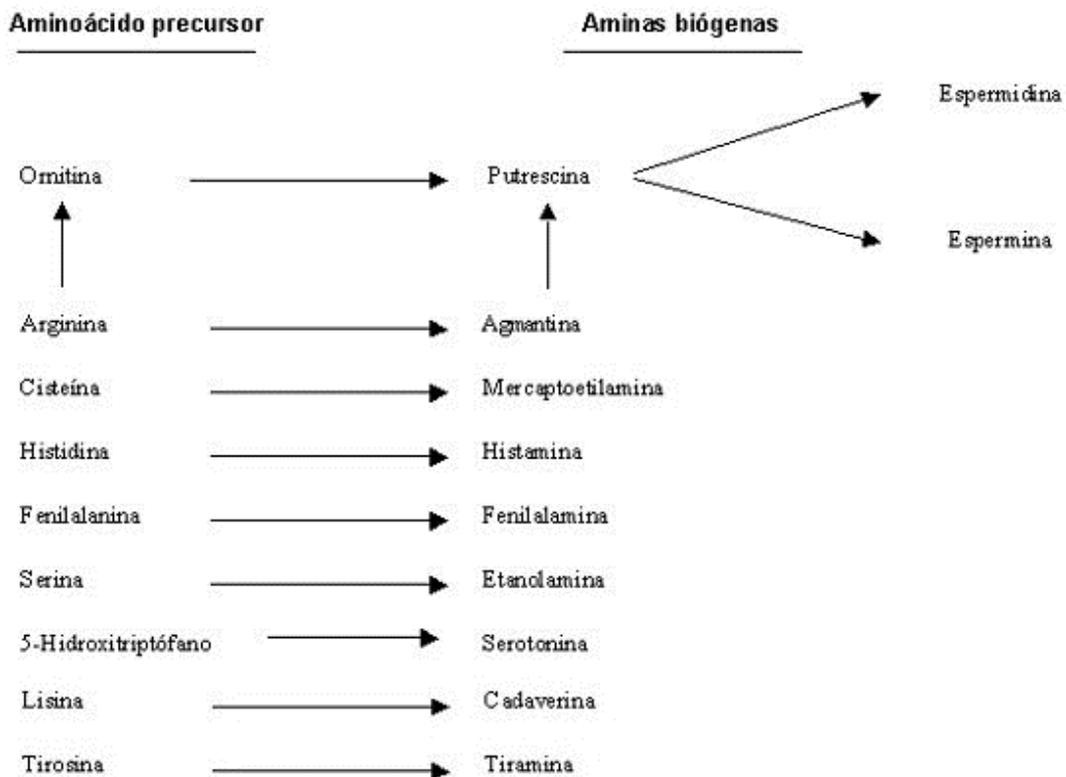


Figura 8. Aminoácidos precursores de aminas biógenas y sus productos (Revista ACE Enología, sin año),

Por otra parte, determinados aminoácidos pueden transformarse en productos o metabolitos particulares: el triptófano en indol y escatol; éste último de olor repulsivo; la cisteína y la metionina en sulfuro de hidrógeno, mercaptanos, disulfuros orgánicos y otros compuestos azufrados, también responsables del mal olor en concentraciones muy pequeñas (Moreno-García, 2006).

Los microorganismos que producen SH<sub>2</sub> y otros sulfuros volátiles tienen una máxima capacidad alterativa, ya que son responsables de olores anormales aun cuando estos metabolitos se encuentren en concentraciones muy pequeñas; por ejemplo, *Shewanella putrefaciens*, un microorganismo productor de SH<sub>2</sub> que puede competir eficazmente con *Pseudomonas* en la alteración de la carne refrigerada (Moreno-García, 2006).

#### 2.1.1.5 Decoloración, producción de pigmentos y cambios en el color de la carne.

La pérdida de color puede deberse a la alteración o destrucción de los pigmentos de la carne. La mioglobina puede ser oxidada a metamioglobina, la cual es de color café, y ésta a su vez combinarse con el SH<sub>2</sub> producido por las bacterias, para formar sulfomioglobina. La mioglobina también puede ser descompuesta para formar pigmentos amarillos o verdes causados por microorganismos productores de peróxido de hidrógeno (Lawrie, 1998). La modificación en el color también puede deberse a la elaboración de pigmentos por los microorganismos, como *Pseudomonas* y *Micrococcus*, éste último produce pigmentos de color rosado, o *Bacillus prodigiosus* el cual produce pigmentos de color rojo (Lawrie, 1998). Las levaduras crecen en las superficies grasas de la carne empacada al vacío principalmente. Éstas producen pigmentos de color café después de 6 semanas de almacenamiento a 0 ° C (Lawrie, 1998).

Los hongos del género *Cladosporium*, *Sporotrichium* y *Penicillium* producen pigmentos negros, blancos y verdes-azulados, respectivamente. La aparición de una coloración negra o roja puede ser producida en productos de carne curados por ciertas bacterias halófilas. En las salchichas se han llegado a observar coloraciones verdes atribuidas a *Lactobacillus viridescens* (Lawrie, 1998).

#### 2.1.1.6 Deterioro microbiano a temperatura de refrigeración

A temperaturas de refrigeración no se multiplican en el interior los posibles microorganismos intrínsecos, ya que el Eh es negativo, y sólo permite el crecimiento de mesófilos anaerobios, los cuales no se desarrollan a bajas temperaturas. En cambio, sí pueden hacerlo algunos de los microorganismos de contaminación superficial; los psicrótrofos, por su capacidad de crecimiento a temperaturas de

refrigeración. No obstante, su proporción en el total de contaminantes es pequeña, y se encuentra sobretodo en canales de animales que se desuellan (el 10% aproximadamente). En aves, es mayor, y proceden principalmente del agua de lavado (Moreno-García, 2006). En la Tabla 3 se muestra un listado de las bacterias que intervienen en la alteración superficial de la carne refrigerada.

Tabla 3. Bacterias que intervienen en la alteración superficial de la carne refrigerada (Moreno-García, 2006).

Microorganismo	Tinción de Gram	Capacidad de multiplicación en ausencia de oxígeno
<i>Pseudomonas</i>	Negativa	No
<i>Shewanella putrefaciens</i> (sólo a pH>6)	Negativa	Sí
Micrococáceas	Positiva	No
<i>Brochothrix</i>	Positiva	Sí
<i>Lactobacillus</i> y otras BAL*	Positiva	Sí
<i>Enterobacteriaceae</i>	Negativa	Sí
<i>Clostridium spp.</i>	Positiva	Sí
<i>Acinetobacter</i>	Negativa	No
<i>Moraxella</i>	Negativa	No
<i>Psychrobacter</i>	Negativa	No
<i>Empedobacter</i>	Negativa	Sí
<i>Chryseobacterium</i>	Negativa	No
<i>Alcaligenes</i>	Negativa	No
<i>Aeromonas</i>	Negativa	No

\*BAL: Bacterias Ácido Lácticas

En productos cárnicos curados, las grandes concentraciones de sal reemplazan la biota mencionada por bacterias halófilas o halotolerantes. La habilidad de reducir el nitrato y los nitritos es una de las actividades metabólicas características de las bacterias halófilas. Los bacilos en general son conocidos por su capacidad de tolerar 15% de NaCl y en jamones enlatados producen el inflamiento de la lata por la producción de óxido nitroso obtenido de la reducción de los nitratos y los nitritos (Lawrie, 1998).

El deterioro microbiano que ocurre en la carne refrigerada se subdivide a su vez, de acuerdo con la capacidad de los microorganismos de crecer en ausencia de oxígeno y presencia de CO<sub>2</sub> en dos tipos: el deterioro en atmósfera de aire, y el deterioro en atmósferas modificadas y al vacío.

a) *Deterioro microbiano de la carne refrigerada en atmósfera de aire*

En atmósfera de aire la alteración de la carne de pH normal (5.3 - 5.8 para carnes rojas, y 5.4 - 6.2 para las aves) se produce principalmente por *Pseudomonas* spp., la cual es la causa de olores muy desagradables y se multiplica con mayor rapidez que otras bacterias asociadas con la alteración de la carne en aerobiosis tales como *Brochothrix thermosphacta* y las *Enterobacteriaceae*. En la carne DFD y en la carne con valores de pH intermedios, como el muslo de pollo, se detecta con frecuencia la presencia de *Shewanella putrefaciens*, ya que esta bacteria no crece por debajo de pH's de 5.8 - 5.9 (Moreno-García, 2006; Lawrie, 1998).

La vida de anaquel de la carne refrigerada y mantenida en atmósfera de aire depende en gran medida de la cantidad de la microbiota inicial; a una misma temperatura, la alteración tarda más tiempo en presentarse cuando la contaminación inicial es menor (Moreno-García, 2006).

b) *Deterioro microbiano de la carne refrigerada en atmósferas modificadas y al vacío*

En el caso de la carne empacada al vacío, el escaso oxígeno residual es rápidamente consumido por la respiración tisular sobreviviente y por las bacterias presentes, por lo que se acumula pronto CO<sub>2</sub> hasta concentraciones de 20% y más. Éstas son inhibitoras de la biota alterante, ya que la mayoría de los microorganismos de importancia en la carne fresca son sensibles al CO<sub>2</sub> como *Pseudomonas* (Lawrie, 1998), al igual que todos los psicrótrofos. Pueden crecer, no obstante, las bacterias acidolácticas, que producen ácidos (acético, fórmico y láctico) por fermentación de la glucosa, pero que son incapaces de metabolizar los aminoácidos y producir metabolitos amoniacaes, lo que evita la aparición de olores pútridos. La alteración ocurre lentamente y, si es que llega a producirse, es debido a la acumulación de los ácidos citados, causantes de olores “agrios” y a “quesería”

(Moreno-García, 2006). También pueden crecer algunos hongos y levaduras resistentes al CO<sub>2</sub>.

Por otro lado, en atmósferas combinadas de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> (40-20% y 60-80%, respectivamente), usadas para inhibir el crecimiento microbiano y mantener el color rojo de la carne con la oximioglobina, la asociación alterante de la carne de pH normal está constituida por mezclas de bacterias ácido-lácticas, *Brochothrix thermosphacta* y *Pseudomonas spp.* Cabe señalar que esta última desaparece tan pronto como se haya consumido el oxígeno presente. (Tabla 4) (Moreno-García, 2006).

Tabla 4. Microorganismos principales y secundarios responsables y tipo de alteración de la carne no envasada (atmósfera de aire) y envasada al vacío y en atmósferas modificadas (Moreno-García, 2006).

Categoría de carne	Gases en el envase	Bacterias alterantes principales y (secundarias)	Tipo de alteración
Carne fresca no envasada	No aplicable	<i>Pseudomonas spp.</i> ( <i>Brochothrix thermosphacta</i> ; <i>Enterobacteriaceae</i> )	Olores amoniacales, seguidos de formación de limosidad
Atmósfera modificada para la venta al por menor	O <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	<i>B. thermosphacta</i> ; bacterias acidolácticas; ( <i>Enterobacteriaceae</i> ; <i>Pseudomonas spp.</i> )	Agrio, olores a "lechería"
Atmósfera modificada para la venta al por menor (carne de ave)	N <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	Bacterias acidolácticas <i>Shewanella putrefaciens</i>	Agrio, olores a "lechería"

### 2.1.1.7 Deterioro causado por mohos y levaduras

Este tipo de alteración es bastante frecuente debido a que muchos mohos pueden crecer en medios con actividad de agua menor que la requerida por bacterias psicrótrofas, y a que también pueden crecer a temperaturas de refrigeración y aún de congelación de la carne. No obstante, los mohos son menos importantes que las bacterias, ya que su crecimiento es más lento. El crecimiento superficial de los mohos tiene lugar en forma de manchas o agrupamientos de color diverso; barbas o pelos aéreos o botones algodonosos grises a negros (*Thamnidium*, *Mucor*, *Rhizopus*), manchas negras (*Cladosporium*), manchas verde-azuladas (*Penicillium*), entre otras. En la superficie de la carne refrigerada pueden crecer también algunas levaduras (*Candida*, *Cryptococcus*, *Rodotorula*). En la carne de aves, el papel alterante de las levaduras es más importante que en la carne roja (Moreno-García, 2006). Las alteraciones descritas se ilustran en la Figura 9.

Las alteraciones debidas al crecimiento de levaduras en la superficie de la carne son la mucosidad, la lipólisis, los olores y sabores extraños, y la decoloración dependiendo de la pigmentación de las mismas (blanco, crema, rosa o marrón) (Rodríguez-Rivera, 2008).



Figura 9. Carne alterada por el crecimiento de mohos (Divinely toxic, sin año)

### 2.1.2 Otras causas de deterioro

#### 2.1.2.1 Oscurecimiento de la carne

Es común que la carne refrigerada se oscurezca por exposición al aire, sobre todo las partes musculares no recubiertas de grasa. Durante el almacenamiento la oximioglobina, la cual es la responsable del color rojo de la carne, puede oxidarse a metamioglobina, la cual es de color café (Kerry et al., 2002). En otros casos se debe

a la concentración de los pigmentos musculares por pérdida de agua. (Moreno-García, 2006).

#### 2.1.2.2 Pérdidas de humedad

Se manifiestan como una pérdida de peso y encogimiento, se deben a la desecación de la superficie de la carne y su magnitud depende de las condiciones ambientales, de la humedad relativa, del tiempo de conservación y del tipo de carne (Moreno-García, 2006).

#### 2.1.2.3 Absorción de olores extraños

La carne refrigerada absorbe con gran facilidad diversos olores cuando se mantiene almacenada junto a otros alimentos, tales como pescado, frutas, cebollas, entre otros, o bien debido a fugas de los gases frigoríficos ( $\text{NH}_3$ ), desinfectantes utilizados (cresoles, fenoles), principalmente (Moreno-García, 2006).

### 2.2 *Microorganismos patógenos de la carne*

La carne, y principalmente los productos cárnicos, son considerados como alimentos potencialmente peligrosos (FDA, 2010). En los Estados Unidos de Norteamérica, en 2011 se reportaron 47.8 millones de enfermedades atribuidas a alimentos, de las cuales la mayor parte fueron atribuidas a los microorganismos *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens* y *Campylobacter spp.*, con la carne de res y de ave como principales vehículos de infección (CDC, 2011).

El control de los microorganismos patógenos de la carne es un importante criterio de inocuidad de los alimentos, ya que las enfermedades que producen estos microorganismos pueden llegar a tener consecuencias muy severas e incluso mortales. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año tienen lugar 1,500 millones de infecciones gastrointestinales a nivel mundial, de las que resultan 1,5 millones de muertes. En México, en 2003 se reportaron 4,556 decesos causados por infecciones intestinales, y en 2008, la Secretaría de Salud (SSA) informó que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos, ocuparon la decimocuarta causa de fallecimientos a nivel nacional (Hernández-Cortés, Aguilera-Arreola & Castro-Escarpulli, 2011). Vigilancia especial se le debe dar a los productos cárnicos listos para consumirse (RTE, por sus siglas en inglés) (Ledward et al., 1995).

A continuación se presenta una lista de los principales microorganismos patógenos de importancia en la carne y en los productos cárnicos.

a) *Salmonella spp.*

El género *Salmonella* agrupa más de 2000 serotipos o serovariedades, y todos comparten una estructura antigénica única. *Salmonella* es un parásito intestinal de los humanos y de muchos animales, incluidos los roedores, las aves y los animales domésticos. Las dos especies más distribuidas son *S. bongori* y *S. enterica*, la cual a su vez está dividida en seis subespecies: *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houenae*, *indica* y *enterica*. Ésta última es la mayor responsable de las infecciones en humanos y en animales y cuenta con un gran número de serotipos, entre ellos Typhimurium y Enteritidis. Los síntomas de la salmonelosis en humanos incluyen náuseas, vómitos, diarrea, dolores abdominales y fiebre, con una duración aproximada de 3-12 días. Se sabe que este patógeno se encuentra principalmente en el ganado vacuno, caprino, ovino y porcino, así como en aves y sus huevos (Kerry et al., 2002).

b) *Escherichia coli*

Al igual que *Salmonella spp.*, *E. coli* es un habitante natural del tracto intestinal del ser humano y otros mamíferos. La mayoría de los *E.coli* son sólo organismos comensales y no causan daño; sin embargo, existen otros tipos que son patógenos para el hombre y otros animales que no forman parte de la biota natural del intestino humano. *E. coli* se encuentra dividida en más de 170 serotipos basados en su tipo de antígeno: somático (O), flagelar (H) o capsular (K). Existen diversos tipos de enfermedades producidas por *E. coli* y éstas dependen de los factores de virulencia presentes. Actualmente se reconocen seis grupos de virulencia de *E. coli*: enteropatógena (EPEC); enterotoxigénica (ETEC); enteroinvasiva (EIEC); verotoxigénica (VTEC), que incluye a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC); enteroagregativa (EAaggEC) y difusiva-adherente (DAEC). Esta bacteria es la responsable de la mayor parte de los casos de diarrea en niños en los países en vías de desarrollo, mientras que en los países desarrollados ha tomado mucha importancia gracias a *E. coli* verotoxigénica, serotipo O157:H7 (conocida simplemente como *E.coli* O157:H7), la cual es sumamente virulenta y es capaz de causar enfermedades en individuos sanos con dosis infecciosas inferiores a 100

células. La severidad de esta infección puede ir desde colitis hemorrágica, hasta condiciones que ponen en riesgo la vida, e incluso fatales. En lo que respecta a EPEC, ETEC, EIEC, se sabe que su virulencia es mucho menor y se requieren dosis de más de  $10^5$  células para producir una infección, la cual por lo general siempre va acompañada de diarrea. EPEC causa diarrea sanguinolenta en niños (comúnmente referida como diarrea infantil), la cual en algunos casos es prolongada y persistente; ETEC produce diarrea auto-limitante, vómito, fiebre, así como la llamada “diarrea del viajero”; mientras que EIEC es causante de disentería similar a la producida por *Shigella spp.* (Kerry et al., 2002).

Una de las principales fuentes de *E.coli* O157:H7 es el ganado vacuno y otros rumiantes. Por lo tanto, es en la carne cruda de res donde se tiene una mayor probabilidad de encontrar al patógeno debido a la contaminación fecal durante el sacrificio o el ordeño. Se han realizado estudios donde 30% de las canales de res se encontraron contaminadas después del sacrificio; mientras que en productos procesados a la venta, se encontró que 2-4% de la carne molida de res estaba contaminada; 1.5% de la carne de pollo y cerdo y 2% de la carne de ovino (Kerry et al., 2002).

### c) *Campylobacter jejuni*

Actualmente se considera una de las causas principales de infección bacteriana transmitida por los alimentos en los países desarrollados. Al igual que *E. coli* y *Salmonella spp.* se asocia con los mamíferos, aunque a diferencia de éstos, no sobrevive fuera del huésped. Este microorganismo es parte de la biota normal de una amplia variedad de animales salvajes y domésticos, especialmente las aves. Existe evidencia considerable que demuestra que la carne de ave es el vehículo principal de transmisión del *Campylobacter jejuni*. Más de 75% de los pollos y los pavos son portadores del microorganismo en su tracto intestinal. Se estima que 30% de la carne de ave que se encuentra a la venta está contaminada con *C. jejuni* en niveles de  $10^2$ - $10^4$  células/ g (Kerry et al., 2002). Raramente causa la muerte y se considera relativamente fácil de controlar. Los alimentos con los que se asocia son en general productos cárnicos que se contaminan después de ser cocinados o en productos con una inadecuada cocción. En contraste con su baja severidad, la virulencia es alta, ya que ocurre a bajas dosis celulares (>100 células). La

campilobacteriosis en el ser humano se caracteriza por una enterocolitis aguda que dura por lo general una semana. Entre otros de los síntomas característicos de la enfermedad se encuentran fiebre, dolor abdominal y diarrea.

d) *Yersinia enterocolitica*

Las estadísticas muestran que *Y. enterocolitica* es cada vez más una causa de gastroenteritis en seres humanos en Europa y en Estados Unidos, con el serotipo O:3 como predominante (Kerry et al., 2002). Este microorganismo es un componente de la biota intestinal de los animales de carne roja, particularmente de los cerdos. Esta infección se caracteriza por síntomas como dolores abdominales, fiebre y en algunos casos diarrea. Debido a su habilidad de multiplicación a temperaturas de refrigeración, *Y. enterocolitica* es de especial interés, sobre todo en los productos listos para comer (RTE) (Ledward et al., 1995; Kerry et al, 2002).

e) *Staphylococcus aureus*

Las cepas toxigénicas de *S. aureus* se encuentran relacionadas con productos cárnicos debido a la contaminación por manipulación inadecuada. Los principales brotes de intoxicación estafilocócica ocurren por el manejo inapropiado de los alimentos o el almacenamiento a temperaturas incorrectas, ya que *S. aureus* se reproduce y genera la toxina responsable del envenenamiento. Se ha aislado *S. aureus* de canales de bovino y de carne cruda de res (Lawrie, 1998).

f) *Listeria monocytogenes*

La listeriosis ocurre con baja frecuencia, sin embargo, su severidad ha hecho que se vigile cuidadosamente la presencia de este microorganismo, ya que presenta una alta tasa de mortalidad. *L. monocytogenes* se encuentra en diversos ambientes como el suelo, la vegetación y en el tracto intestinal de seres humanos y animales sanos, como aves y ganado. El microorganismo ha sido aislado de una gran variedad de alimentos entre los que figuran la carne cruda y los productos lácteos. Algunos de los brotes más importantes han sido atribuidos a productos cárnicos como el *paté* y la lengua de cerdo, ambos alimentos procesados y refrigerados. Los síntomas graves asociados con esta enfermedad son meningitis, septicemia y abortos (Kerry et al., 2002).

Microorganismos como *L. monocytogenes*, al igual que *Y. enterocolitica*, pueden sobrevivir a temperaturas de refrigeración, y por lo tanto es de importancia en productos cárnicos cocidos que no requieren ser cocinados (RTE), como el *paté* o el salami (Ledward et al., 1995).

g) *Clostridium perfringens*

Las cepas de *C. perfringens* se clasifican en 5 tipos (A-E) de acuerdo con las propiedades antigénicas de la toxina que producen. El tipo A es el responsable de prácticamente todas las intoxicaciones alimentarias causadas por esta bacteria. El tipo C causa raramente enfermedad y de ocurrir, resulta en necrosis entérica, especialmente en organismos inmunocomprometidos. La cepa A de *C. perfringens* usualmente se encuentra en el suelo en concentraciones de  $10^3$ - $10^4$  células/g y se encuentra relacionado principalmente con intoxicaciones alimentarias relativas al mal manejo de los alimentos; la carne y los productos cárnicos se encuentran frecuentemente involucrados en dichas intoxicaciones. La enfermedad ocurre cuando se ingiere comida fuertemente contaminada con la toxina y los síntomas típicos incluyen diarrea y dolor abdominal severo (Kerry et al., 2002).

h) *Clostridium botulinum*

Al igual que *C. perfringens*, las cepas de *C. botulinum* se clasifican en varios tipos (A-G) dependiendo de las propiedades de la toxina producida. Los tipos A, B, E y F son los responsables en la mayoría de los casos del botulismo en humanos; mientras que los tipos C y D provocan enfermedades en animales. El tipo G ha sido aislado en ejemplares de suelo en Argentina, misma razón por la cual también se le nombró *C. argentinense*, y ha sido relacionado con casos de muertes repentinas de adultos y niños (Sonnabend et al., 1981). Los brotes de botulismo están asociados principalmente con productos enlatados y productos cárnicos empacados al vacío, ya que se trata de un microorganismo anaerobio estricto. La ocurrencia de esta enfermedad, al igual que la listeriosis, es baja, sin embargo, su severidad es tal que puede ocasionar la muerte aun con dosis muy ligeras de la toxina. Las esporas de *C. botulinum* se encuentran en el suelo y en el ambiente, aunque en menor medida que las de *C. perfringens* (Kerry et al., 2002).

La carne envasada al vacío y en atmósferas modificadas no presenta ningún riesgo sanitario en relación con los clostridios patógenos si ésta se mantiene en refrigeración, ya que no son psicrótrofos. Sólo algunas cepas proteolíticas de *C. botulinum* (tipos E y B) tienen esta capacidad, pero el tipo E se encuentra en el pescado y las cepas del tipo B, como el resto, son poco competitivas y es muy improbable su multiplicación en la carne fresca (Moreno-García, 2006).

i) *Virus*

Los virus son agentes infecciosos compuestos exclusivamente de ácidos nucleicos y proteínas a los cuales se les conoce como virus desnudos, y en algunos casos con la presencia adicional de una envoltura de lípidos. La mayoría de los virus causantes de infecciones alimentarias son virus desnudos, y entre éstos cabe destacar el virus de la hepatitis A, responsable a nivel mundial de 50% de los casos diagnosticados de hepatitis; el rotavirus, causante cada año de alrededor de un millón de muertes infantiles en todo el mundo, y los norovirus que están implicados en el 90% de las gastroenteritis causadas por alimentos (Hall et al., 2011; Sanderson, Clark, Taylor & Bolanos, 2011; WHO, 2012).

j) *Otros patógenos*

Otras bacterias asociadas con la carne son *Brucella melitensis* y *Bacillus anthracis*, las cuales no se consideran importantes debido a su baja incidencia. *Bacillus cereus* se ha encontrado en la carne cruda y el organismo se relaciona con las vacas lecheras, por lo que se cree que la fuente de transmisión es la ordeña y la inadecuada manipulación de las canales posteriores al sacrificio. A pesar de lo mencionado, no se considera un riesgo latente en alimentos de origen animal. Parásitos como *Giardia duodenalis* y *G. lamblia* o *Entamoeba histolytica* también se encuentran en muchos animales domésticos como las ovejas, cabras y el ganado, particularmente en animales jóvenes y pueden producir infecciones y diarrea en niños y adultos. Otros parásitos como *Trichinella spiralis*, *Taenia saginata*, en carne de bovino y *Taenia solium*, en carne de cerdo, tienen consecuencias más graves e incluso llegan a causar la muerte (Lawrie, 1998; Kerry et al., 2002).

## Capítulo 3. Altas presiones isostáticas (APIs)

### 3.1 Aspectos generales de las APIs

#### 3.1.1 Definición de la API

La tecnología de aplicación de APIs en alimentos consiste en someter el producto a una presión uniforme en el intervalo de 100 a 1000 MPa (Ledward et al., 1995). Debido a que la presión es uniforme a través de todo el alimento, se le denomina isostática. Al contrario del tratamiento térmico, el tratamiento por alta presión no depende de la relación tiempo/masa, lo que hace que se reduzca el tiempo de procesado (Barbosa-Cánovas et al., 1999). En otras palabras, si la distribución de la presión es uniforme, la conservación del alimento también lo es, sin que ninguna parte del mismo quede sin tratamiento.

Para tener noción sobre la magnitud de la presión utilizada resulta útil comparar con algunas presiones que son más familiares. Por ejemplo, se sabe que en las simas oceánicas más profundas de la fosa de las Marianas, en el Océano Pacífico, existen presiones de poco más de 100 MPa (Ledward et al., 1995); mientras que en la industria del diamante artificial se utilizan presiones aproximadas de 5-6 GPa (Ordóñez-Pereda et al., 2004).

#### 3.1.2 Fundamento

Los efectos de la presión sobre los alimentos pueden ser comprendidos mediante dos principios. Uno, el de Le Chatelier, el cual establece que cuando una fuerza o perturbación es ejercida sobre un sistema, este reaccionará para contrarrestar dicha fuerza (Ledward et al., 1995). El otro, el principio de Pascal, predice que la presión aplicada a un fluido en un punto se transmite de forma instantánea y homogénea hacia los restantes, independientemente del tamaño y de la geometría del medio (Barbosa-Cánovas et al., 1999).

Así, toda reacción, cambio de conformación o transición de fase que esté acompañada por una disminución de volumen será favorecido a altas presiones; mientras que aquellas reacciones que involucren un aumento en el volumen serán inhibidas (Ledward et al., 1995).

### 3.1.3 Generación de API

La alta presión se puede generar de dos formas, ya sea por compresión directa o indirecta:

- a) *Compresión directa*. Esta compresión es generada por presurización de un medio con la parte final de un pistón de diámetro pequeño. Este método permite una compresión muy rápida, pero las limitaciones del cierre dinámico entre el pistón y la superficie interna de la cámara limitan el uso de este método a diámetros pequeños (Fig. 10)

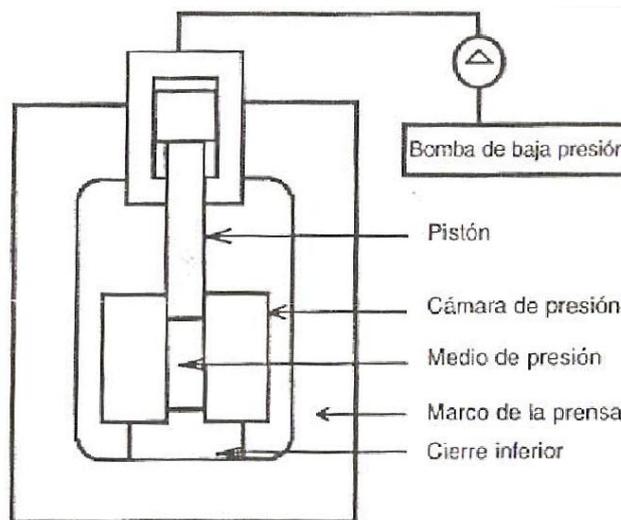


Figura 10. Generación directa de presión (Barbosa-Cánovas et al., 1999).

- b) *Compresión indirecta*. Esta compresión utiliza un intensificador de alta presión para bombear el medio presurizador desde un depósito hacia la cámara de presión cerrada hasta que se alcanza la presión deseada. Este es el método utilizado por la mayoría de sistemas industriales de presión isostática (Fig. 11).

Los sistemas de presión isostática a su vez, pueden operar como sistemas isostáticos fríos, templados o calientes:

- a) *Presurización isostática fría (PIF)*. Consiste en la colocación de los materiales en un molde de elastómero que se somete a alta presión. El molde se coloca

en la cámara de presión y se llena con el medio de presión. Es la técnica que se utiliza en la industria alimentaria.

- b) *Presurización isostática templada (PIT)*. En ella la presión isostática se aplica en combinación con temperaturas entre la ambiente y 200 °C.
- c) *Presurización isostática caliente (PIC)*. Primeramente se utilizó en las industrias del metal y cerámicas. El material es calentado y presurizado de manera uniforme .

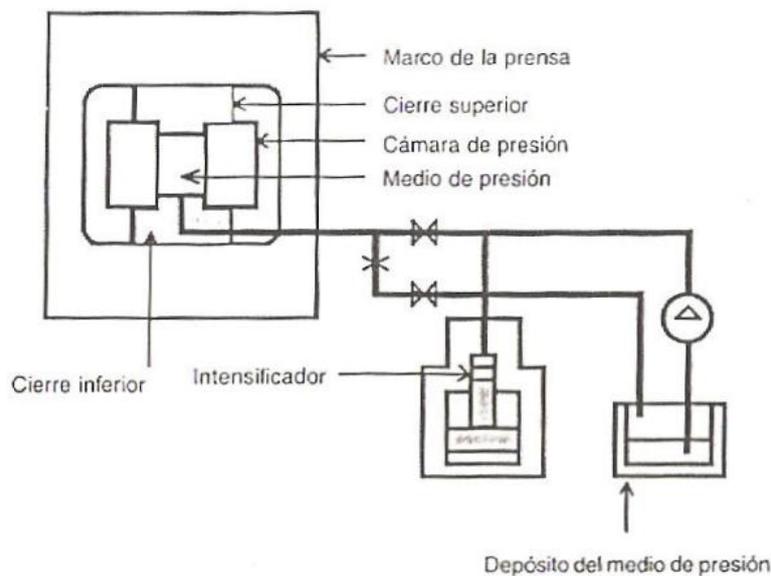


Figura 11. Generación indirecta de presión (Barbosa-Cánovas, 1999).

El equipo PIF desarrollado originariamente para aplicaciones cerámicas fue modificado para adecuarlo a los requerimientos adicionales del procesado de alimentos. El procesado de alimentos requiere el uso de agua potable con aceite líquido como medio de presión para proteger a las cámaras de presión de la corrosión (Barbosa-Cánovas et al., 1999).

#### 3.1.4 Equipo comercial

Los elementos básicos de un equipo de presurización industrial son los siguientes:

- a) Una celda, cámara o contenedor.
- b) Un sistema generador de presión.
- c) Un mecanismo de control de temperatura.
- d) Un sistema de carga y descarga.

La mayoría de los equipos comerciales de API se fabrican con doble cilindro, para minimizar la reducción del tiempo de vida de la cámara. Las partes de la cámara que están en contacto con el medio de presurización se construyen de acero inoxidable. La alta presión y los tiempos de tratamiento moderados implican aplicar una gran carga sobre el cierre de la cubierta de la cámara. Se utiliza un auto-cierre con alta durabilidad y seguridad (Fig. 12). Los cierres pueden resistir aperturas y cierres repetidos de la cámara de presión y aplicación de alta presión sin fugas (Bertucco & Spilimbergo, 2001).

Cuando sólo se requiere calentar el medio, el sistema de control de temperatura es simplemente una resistencia eléctrica, y cuando se necesita calentamiento-enfriamiento, se coloca una chaqueta enfriadora, o un intercambiador de calor. El control de la temperatura es esencial, ya que la temperatura aumenta de 2 a 3 °C por cada 100 MPa (Kerry et al., 2002) debido a la compresión adiabática.

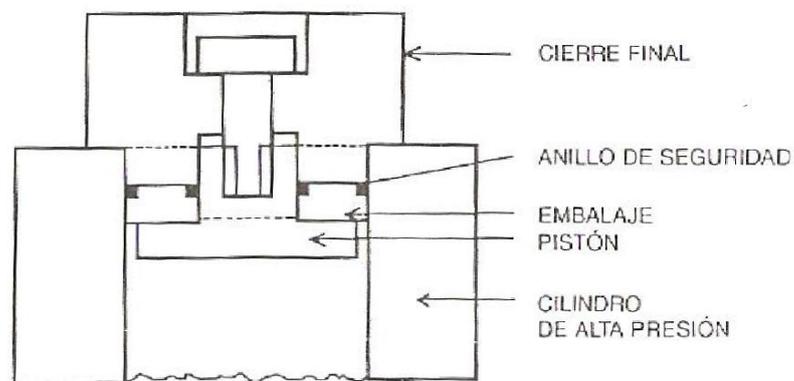


Figura 12. Cierre de seguridad de una cámara de presión (Barbosa-Cánovas et al., 1999)

En el mundo un gran número de fabricantes se dedican al desarrollo de equipo de API en alimentos; las principales compañías son:

- a) Resato International (Países Bajos)
- b) Avure Technologies Inc. (EE.UU.)
- c) Elmhurst Research Inc. (EE.UU.)
- d) Engineered Pressure Systems Inc. (Bélgica-EE.UU.)
- e) Kobelco (Japón)

- f) Mitsubishi Heavy Industries (Japón)
  - g) Hiperbaric (España)
  - h) Millard (EE.UU.)
  - i) Stansted Fluid Power LTD (Reino Unido)
  - j) Uhde Hockdrucktechnik (Alemania)
- (Norton & Sun, 2008)

Las empresas mencionadas se enfocan principalmente en la producción de equipos de API a escala industrial (Fig. 13), mientras que, paralelamente, un gran número de compañías pequeñas desarrolla equipos a escala de laboratorio y plantas piloto para los institutos de investigación y las universidades (Fig. 14) (Hendrickx & Knorr, 2002).



Figura 13. Equipo de API a escala industrial ([Hiperbaric, sin año](#))

### 3.1.5 Economía y costo de la aplicación de API

Actualmente los costos del procesamiento por API son aproximadamente de 14 centavos de euro (equivalente a 2.38 MXN) / kg de producto procesado a 600 MPa por 2-10 min (Aymerich, Picouet & Monfort, 2008). Se incluyen en la estimación el costo de operación y mantenimiento. Un equipo de API a escala comercial puede tener precios que van de \$500 000 dólares a \$2.5 millones de dólares (USD),

dependiendo de su capacidad y grado de automatización, entre otros factores (Yaldagard et al., 2008). Aunque el costo de la inversión inicial es elevado, se considera que la adopción de API permite ahorros significativos de energía, al reducir los tiempos de procesamiento y evitar en muchos casos las etapas de enfriamiento de los productos procesados térmicamente (Heinz, Knoch & Lickert, 2009).

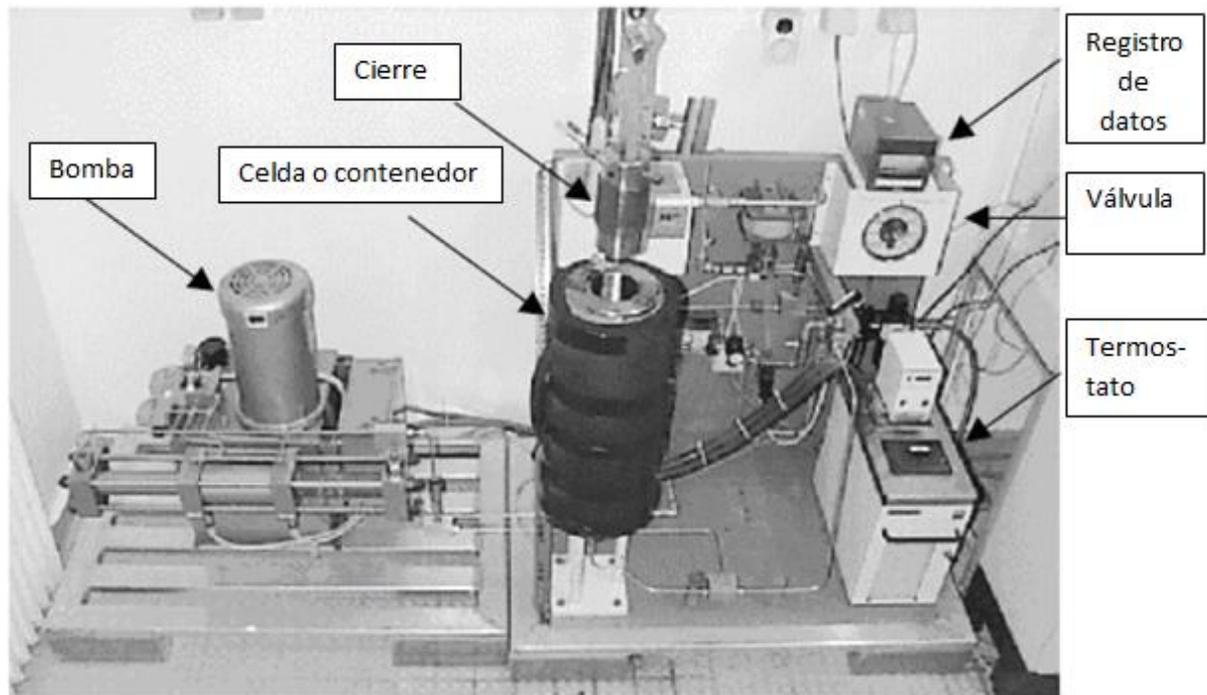


Figura 14. Equipo de API a escala de laboratorio (Yaldagard et al., 2008).

### 3.2 Aplicación de las altas presiones como método de conservación en carne y productos cárnicos.

#### 3.2.1 Descripción del proceso

Las muestras se empaquetan normalmente al vacío, y se usan materiales que resistan al tratamiento, tales como polietileno de baja densidad en múltiples capas o empaques hechos de aluminio. Una vez que las muestras han sido colocadas en el contenedor, éste es llenado con un fluido que transmite la presión, generalmente agua mezclada con una pequeña parte de aceite lubricante, o en algunos casos agua con una mezcla de etilenglicol (3:1). El contenedor debe ser llenado al máximo posible, sin dejar espacio entre el líquido y la tapa, para economizar energía en la etapa de presurización. La presión es aplicada, ya sea directa o indirectamente,

aunque como ya se mencionó, es más común que los equipos estén diseñados para aplicar la presión por el método indirecto. En agua, la presión aumenta a una velocidad de 100 a 200 MPa/min; cuando se alcanza la presión deseada, se cierran la válvulas y la presión permanece constante (Kerry et al., 2002). El procedimiento se lleva a cabo por lotes, existe un tiempo de procesado cíclico, el cual es la suma de todas las etapas: cargado de la muestra, sellado, presurización, mantenimiento de la presión por un tiempo determinado, despresurización, apertura, descargado de la muestra. Asimismo, pueden tratarse de manera simultánea numerosas muestras en una misma celda (Bertucco & Spilimbergo, 2001). En la industria alimentaria se utilizan en general presiones que varían entre 200 y 800 MPa, con una duración media de 15 minutos por lote (Kerry et al., 2002). Es deseable que los tiempos de procesamiento sean lo más cortos posible, para maximizar la productividad (Ledward et al., 1995). Asimismo, la eficiencia volumétrica del proceso debe ser maximizada, para tratar la mayor cantidad posible de muestras por lote (Bertucco & Spilimbergo, 2001). Se hace hincapié en que la temperatura debe ser vigilada para evitar el daño de la muestra y las consecuentes pérdidas económicas. La Figura 15 presenta un diagrama que ilustra las principales etapas del proceso.



Figura 15. Diagrama simplificado del procesado de alimentos por API

### 3.2.2 Cambios en la estructura y los componentes de la carne como consecuencia de la aplicación de API.

La modificación que produce la aplicación de API, tanto en los productos cárnicos, como en los alimentos en general puede explicarse a nivel de las interacciones intermoleculares. Las APIs producen cambios en las interacciones hidrofóbicas, puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas (Ledward et al., 1995). Por lo tanto, es natural que la aplicación de API modifique de manera importante a las proteínas de la carne. Por el contrario, los enlaces covalentes permanecen intactos, con lo cual se espera que los compuestos de sabor y aroma no sean modificados en alimentos tratados con API. Las interacciones de puente de hidrógeno, por su parte, se encuentran favorecidas a altas presiones, ya que implican el acortamiento de las distancias atómicas, y por lo tanto, un decremento de volumen.

Los ácidos y bases también se ven modificados por la API. La carga electrostática de los iones provoca que la capa adyacente de moléculas de agua se oriente en función de la carga de éstos. Este re-ordenamiento de las moléculas de agua provee un empaquetamiento más compacto y, con ello, un decremento en el volumen. Como resultado, la aplicación de API produce la ionización de muchos grupos ácidos o básicos en las macromoléculas (Ledward et al., 1995).

#### 3.2.2.1 Efecto de la API sobre los constituyentes de la carne

##### *a) Agua*

A 600 MPa y 22 °C, el agua se comprime 15%. La carne y los productos cárnicos usualmente contienen cantidades de agua significativas y se comprimen de igual forma. Hay que recordar que la compresión adiabática del agua también induce un aumento de la temperatura de entre 2 y 3 °C por cada 100 MPa, aunque dicho aumento no se considera importante, ya que éste se disipa normalmente por la transferencia de calor entre el alimento y el agua del medio presurizante. La API también induce la disociación reversible del agua, provocando un descenso en el pH de 0.2-0.5 unidades por cada 100 MPa (Cheftel & Culioli, 1997). Este cambio es importante por el efecto potencial que puede tener en la desnaturalización de las proteínas de la carne. Adicionalmente, la presión disminuye el punto de fusión del

hielo por debajo de los 220 MPa, permitiendo la congelación y la descongelación bajo presión (Kerry et al., 2002).

#### *b) Proteínas*

Las presiones lo suficientemente elevadas producirán el desdoblamiento completo o parcial de las proteínas, provocarán su desnaturalización, y en muchos casos, la agregación en forma de gel o de precipitado (Ledward et al., 1995). La estructura cuaternaria es sumamente sensible a la API, debido a que sus interacciones principales son hidrofóbicas. Por arriba de 200 MPa ocurren cambios importantes en la estructura terciaria, mientras que en la estructura secundaria los cambios se presentan únicamente con presiones iguales o mayores de 700 MPa (Bajovic, Bolumar & Heinz, 2012).

Mientras que la mayoría de las proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas sufren desnaturalización, la triple hélice de colágeno es estabilizada predominantemente por puentes de hidrógeno y como consecuencia es favorecida por las API (Ma & Ledward, 2013).

Por otra parte, de acuerdo con Fuentes, bVentanas, Morcuende, Estévez & Ventanas (2010) la API puede provocar la oxidación de las proteínas. En su estudio, estos autores reportaron niveles altos de los compuestos carbonílicos (hemialdehídos) los cuales son productos de la desaminación oxidativa de lisina, prolina y arginina, en presencia de catalizadores metálicos como el hierro. Estos compuestos, a su vez, pueden reaccionar con los grupos amino de las cadenas laterales de las proteínas y producir el entrecruzamiento, causando deterioro.

#### *c) Enzimas*

Las enzimas se ven fuertemente modificadas por el tratamiento por API debido a su naturaleza proteínica. El tratamiento por API induce la activación de algunas enzimas y la inactivación de otras, dependiendo del efecto que causen en el sitio alostérico (Clariana, 2011). En la actualidad los mecanismos de inactivación/activación de las enzimas por el tratamiento con API permanecen ignotos, aunque se cree que entre los principales factores de influencia se encuentran la modificación de pH o la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$ , ambos inducidos por la API (Simonin, Duranton & de Lamballerie-Anton, 2012). Se debe continuar la investigación en este campo para poder, eventualmente, manipular la

activación/inactivación de enzimas con el propósito de mejorar la calidad del alimento.

En la carne, la actividad del sistema de calpaínas aumenta a presiones de 150 MPa, pero disminuye a presiones mayores (Kerry et al., 2002). La API también hace que aumente la actividad de las enzimas lisosomales, aunque ello se debe a la ruptura de la membrana del lisosoma a presiones superiores de 300 MPa. También se ha observado que la actividad de la catepsina D y de la fosfatasa ácida en muestras de carne post-mortem presurizada fue mayor que en muestras control durante el almacenamiento (Jung, Ghoul & de Lamballerie-Anton, 2000a). Por el contrario, la actividad de las ATPasas miofibrilares decrece a presiones tan bajas como 70 MPa, y llega a ser nula a 210 MPa. Se ha observado una disminución de la actividad de la ATPasa que depende de  $\text{Ca}^{2+}$  en carne pre y post rigor; no obstante, ello no interfiere con el metabolismo post mortem (Kerry et al., 2002).

#### *d) Lípidos*

Numerosos autores concuerdan en que la aplicación de API promueve la oxidación de los lípidos de carne de cerdo, res y ave (Bajovic et al., 2012). Para que esto ocurra se necesitan presiones entre 300 y 600 MPa, y se ha observado que la oxidación no ocurre inmediatamente después de la aplicación de la presión, sino durante el subsecuente almacenamiento (Simonin et al., 2012).

La oxidación de lípidos es una de las principales causas de deterioro de la carne almacenada, especialmente en aquella que contiene una porción significativa de ácidos grasos insaturados; como consecuencia, tanto el sabor como el valor nutritivo pueden ser afectados. Adicionalmente, un aumento en la cantidad de peróxidos puede traer riesgos a la salud, ya que se los relaciona con el desarrollo de cáncer y enfermedades cardiovasculares (Cheftel & Culioli, 1997).

Cheah & Ledward (1996) mostraron que el tratamiento por API (800 MPa, 20 min) en muestras de carne molida de cerdo, los lípidos se oxidaron más rápido que en las muestras control y que presiones mayores que 300-400 MPa causan la conversión de la mioglobina a la forma desnaturalizada férrica. También sugirieron que el hierro liberado como consecuencia de la desnaturalización es un catalizador de la oxidación de lípidos. No obstante, Orlie, Hansen & Skibsted, (2000 citado por

Bajovic et al., 2012) se manifestaron en desacuerdo, ya que realizaron un estudio en el que no fue posible demostrar que la oxidación de lípidos ocurre debido a una liberación de hierro producida por un cambio de conformación de la mioglobina. De manera más reciente, Ma & Ledward (2013) han dado una respuesta y explicación a ello, y han sugerido que la hemosiderina y la ferritina, y no la mioglobina, son las que liberan el hierro soluble que causa la oxidación durante el procesamiento por API.

Ma, Ledward, Zamri, Frazier & Zhou (2007) reportaron que la carne roja resultó ser más lábil a la oxidación que la blanca, pero Schindler, Krings, Berger & Orlie (2010) observaron lo contrario. Es de esperar que se encuentren discrepancias de esta naturaleza, ya que los alimentos son matrices sumamente complejas en las cuales más de un factor puede tener influencia sobre los resultados. Por un lado, en la carne roja existe una menor proporción de ácidos grasos insaturados, pero al mismo tiempo una mayor cantidad de mioglobina, la cual, como se mencionó, contiene hierro y éste ha sido identificado como un potencial catalizador.

En el mismo estudio, Schindler et al. (2010) determinaron la concentración de peróxido y hexanal, indicadores de la oxidación de lípidos, en carne de pollo y res sometidas a API durante el almacenamiento. En la carne presurizada a 600 MPa se encontró una mayor cantidad de dichos compuestos que en la carne tratada a 400 MPa, lo que sugiere que la oxidación de lípidos es inducida de manera proporcional al aumento de la presión.

En el caso de productos cárnicos, se han publicado numerosos estudios en los últimos años, principalmente en jamón curado. Andrés, Moller, Adamsen & Skibsted (2004) reportaron que la oxidación de lípidos en jamón curado ibérico no es promovida cuando la presión aplicada es menor que 800 MPa. Sin embargo, en contraposición con los resultados de Andrés et al. (2004), Fuentes y colaboradores (2010) encontraron evidencia que muestra que la reacción de oxidación ocurrió en jamón presurizado desde 600 MPa. De manera más reciente, Clariana, Guerrero, Sárraga & García-Regueiro (2011), reportan no haber encontrado efectos significativos en la estabilidad oxidativa de lípidos para el mismo producto presurizado a 400 MPa.

Por otra parte, Bolumar, Skibsted & Orlieen (2012) describieron la cinética de formación de radicales libres en pechuga de pollo, los cuales también se encuentran relacionados con las primeras etapas de la reacción de oxidación de lípidos, y encontraron que a presiones de 400 MPa se incrementa su formación.

#### 3.2.2.2 Efecto de la API sobre las propiedades funcionales de las proteínas de la carne

La industria cárnica depende en gran medida de las propiedades funcionales de las proteínas de la carne para fabricar sus productos; éstas son: capacidad de retención de agua (CRA), capacidad gelificante, y capacidad emulsionante (CE). Otro aspecto importante que se encuentra modificado por la API es la cohesividad, o capacidad de unión de las proteínas entre sí, la cual está íntimamente relacionada con la capacidad gelificante. En general, la API mejora las características de unión de las proteínas (Kerry et al., 2002), y conduce a mejorar la CRA y la CE, debido al aumento en la solubilidad de las proteínas miofibrilares (Bajovic et al., 2012).

##### *a) Capacidad gelificante*

La API hace que las proteínas miofibrilares formen geles sin necesidad de calentar como consecuencia del fenómeno de desnaturalización por presión. Si las proteínas miofibrilares son tratadas bajo API previamente al calentamiento, los geles producidos tienen mayor fuerza, es decir, mayor resistencia a la deformación. Se plantea que estas modificaciones se deben al aumento de hidrofobicidad e interacciones entre los grupos sulfhidrilo de las proteínas miofibrilares (Kerry et al., 2002). Chan, Omana & Betti (2011) utilizaron niveles bajos de presión, (50 y 100 MPa) para mejorar la capacidad gelificante en carne de pavo, y lograron su propósito. De igual manera, se ha observado que la aplicación de API en la materia prima antes de la cocción, da lugar a geles más elásticos y ayuda a reducir la pérdida de humedad por cocción (Bajovic et al., 2012).

##### *b) Cohesividad*

La carne para hamburguesa, un producto reestructurado de alto valor comercial, ha sido estudiada y se ha observado que la unión entre las partículas de carne cuando es cocinada mejora notablemente mediante la aplicación previa de API. El

mejoramiento depende de la concentración de NaCl, la duración del tratamiento de API y el pH de la carne (MacFarlane et al., 1984, citado por Ledward, 1995).

*c) Capacidad emulsionante (CE)*

Crehan & Troy (2000) mostraron que la estabilidad de la emulsión de carne aumentó en salchichas tipo Frankfurt hechas con 1.5% de sal después de haber sido expuestas a un tratamiento de API de 150 MPa. También se ha reportado que la combinación de API con tratamiento térmico (300 -700 MPa, 40 a 60 °C) produce un aumento de la concentración de las proteínas miofibrilares solubilizadas, por lo que la unión de la grasa aumenta y por lo tanto la capacidad emulsionante de los geles resultantes (Simonin et al., 2012).

*d) Capacidad de retención de agua (CRA)*

La aplicación de API mejora la capacidad de retención de agua de la materia prima cruda que se usa en el procesamiento de productos cárnicos, particularmente salchichas (Bajovic et al., 2012). Asimismo, el tratamiento por API con 50 y 100 MPa incrementó la CRA en carne de pavo PSE a un nivel cercano al de la carne normal (Chan et al., 2011).

### 3.2.2.3 Efecto de la API sobre la estructura de la carne

Los cambios que ocurren en la estructura de la carne como consecuencia de la aplicación de API dependen del tiempo que ha transcurrido desde el sacrificio, o sea, de su estado pre-rigor o post-rigor. Si la API es aplicada pre-rigor se produce una contracción masiva de los músculos, que ocasiona un encogimiento de hasta 48%. Lo anterior quizá se deba a la ruptura de las membranas del retículo sarcoplasmático, lo que da lugar a un aumento en la concentración de  $Ca^{2+}$  en el citosol, y se produce la contracción (Simonin et al., 2012). También se produce la ruptura del sarcolema (Kerry et al., 2002).

De manera general, los efectos causados por la aplicación de API en carne en estado de pre-rigor son: disrupción de las bandas I, engrosamiento de las líneas Z, que ocurre debido a la agregación de los filamentos rotos, así como la pérdida de las líneas M y desprendimiento del endomisio y el sarcolema. Otro cambio reportado con frecuencia es el aumento de la separación entre las fibras musculares.

Es importante mencionar que dichos cambios ocurren naturalmente en la carne después de 14 días, por lo que se sugiere que la API acelera los cambios normales post mortem (Kerry et al., 2002).

Por otro lado, en la aplicación de API en carne durante los periodos post rigor no se observó contracción muscular, pero sí ocurrieron modificaciones extensas en la estructura similares a las de la carne en estado de pre rigor. Se ha observado la ausencia de líneas M y una pérdida de la integridad de las bandas I, pero no se observó alteración de las líneas Z después de un tratamiento de 100 MPa durante 60 minutos a 25 °C (Cheftel & Culioli, 1997) y de 325 MPa por 5 minutos a 10 °C (Jung, de Lamballerie-Anton & Ghoul, 2000b).

Asimismo, tanto en la carne pre-rigor como en la post-rigor, al combinar la API con altas temperaturas, se incrementa la magnitud de los cambios producidos en la estructura de la carne, y entre mayor sea la temperatura, menor será la presión requerida para producir los cambios (Cheftel & Culioli, 1997).

### 3.2.3 Efecto de la API sobre las características sensoriales de la carne y los productos cárnicos

La API afecta los parámetros de calidad de la carne, particularmente dependiendo del nivel de presión aplicada, y las características típicas asociadas con la textura y el color pueden ser modificados de manera importante. En general, la carne adquiere una textura de gel y el color se torna más pálido, lo que hace que pierda la apariencia típica de la carne fresca (Bajovic et al., 2012).

#### *a) Cambios en la textura*

Los cambios en la textura de la carne y de los productos cárnicos causados por la API son principalmente consecuencia de la modificación de la estructura de las proteínas y de sus propiedades funcionales, como se describió anteriormente.

En la carne fresca, se ha observado el aumento de la terniza como principal modificación. En general, la aplicación de API en el músculo pre-rigor a temperatura ambiente, produce su ablandamiento; mientras que en el músculo post-rigor, el ablandamiento ocurre sólo si la API es combinada con temperaturas de alrededor de los 70 °C (Ma & Ledward, 2013). No se sabe exactamente a qué se deben estas

diferencias, aunque sí es posible concluir que el ablandamiento post mortem es un proceso complejo que no depende únicamente de la disrupción celular.

Fuentes et al. (2010) determinaron para muestras presurizadas de jamón un aumento en la percepción sensorial de dureza, y un decremento en la jugosidad y masticabilidad, en comparación con muestras no presurizadas. Ellos explicaron que estas características negativas podrían estar relacionadas con las reacciones de entrecruzamiento de las proteínas producidas por la oxidación de lípidos y proteínas. Clariana (2011) reportó para el mismo producto, una mayor percepción de dureza, fibrosidad y gomosidad, así como una disminución en la adhesividad en comparación con el control. Estos resultados se atribuyeron a la compresión del tejido y modificaciones del ordenamiento celular.

En un estudio llevado a cabo por Mor-Mur & Yuste (2003) se aplicó API en salchichas cocidas (500 MPa, 65 °C, 15 min) y se comparó con salchichas pasteurizadas con calor a 80 °C por 40 min. Las salchichas fueron evaluadas por un panel entrenado, el cual no encontró diferencias entre la textura de las salchichas tratadas con API y las tratadas por calor, y en ocasiones las salchichas presurizadas fueron preferidas sobre las tradicionales “especialmente debido a su textura”.

#### *b) Cambios en el color*

El color es un importante atributo de calidad de la carne cruda, ya que influencia la selección del consumidor en la selección de ésta. Un color demasiado pálido o demasiado oscuro con frecuencia ocasiona el rechazo del consumidor (Kerry et al., 2002). El color de la carne fresca depende de las propiedades ópticas de su superficie, al igual que del contenido de mioglobina del músculo, mientras que el color de los productos curados depende de la presencia de nitrosomioglobina (Bajovic et al., 2012).

Numerosos estudios han demostrado que la carne de bovino pierde su coloración después de la aplicación de API. El color aparece “más claro” y “menos rojo” (Kerry et al., 2002). Esta modificación puede deberse a la desnaturalización de la mioglobina y de las proteínas miofibrilares (Sánchez-Basurto et al., 2012). Por lo tanto, y de manera general, los cambios inducidos en el color por la API varían de

acuerdo con el contenido de mioglobina y son más dramáticos en la carne fresca roja, que en la blanca y en los productos cárnicos curados.

Diversos autores han observado mediante el uso del sistema triestímulo (CIELab) para la medición de color, que la API modifica los valores de  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (color rojo) y  $b^*$  (color amarillo) a presiones de 250-350 MPa (Fig. 16). Carlez, Veciana-Nogues & Cheftel (1995) evaluaron el efecto de API en carne molida de res y concluyeron que los valores de  $L^*$  aumentaron significativamente en los intervalos de presión de 200-350 MPa, dando a la carne un color rosado, mientras que los valores de  $a^*$  decrecieron a 400-500 MPa, dando como resultado un color gris-marrón. Efectos similares en el color de la carne han sido descritos por otros autores como Sánchez-Basurto et al. (2011), quienes reportaron cambios significativos en el color de carne de bovino tratada bajo presiones de 345 MPa, aumentando los valores de  $L^*$  al inicio, los cuales eventualmente decrecieron después 30 días de almacenamiento.

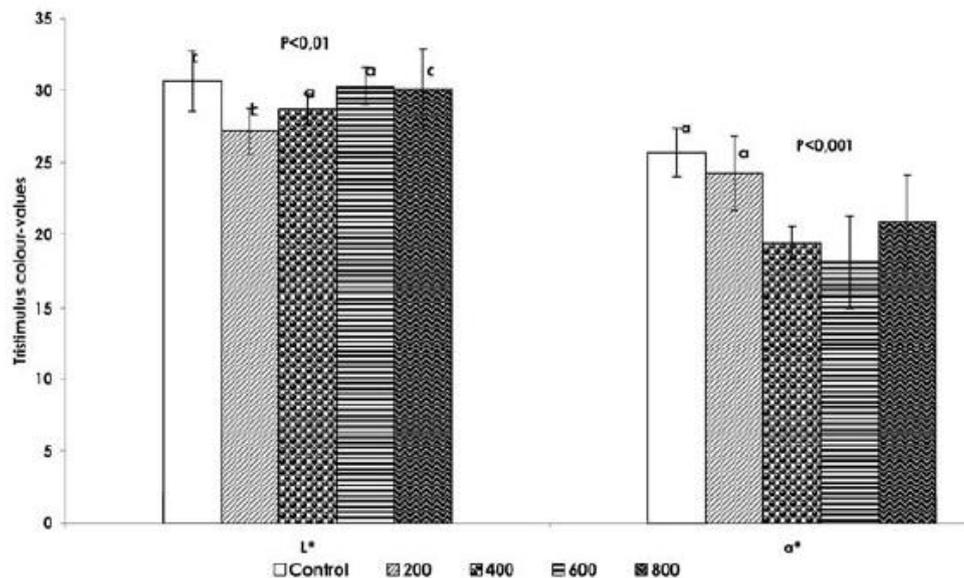


Figura 16. Efecto de la API en los valores de  $L^*$  y  $a^*$  en jamón curado (Andrés et al., 2004).

Picouet, Pérez-Juan & Realini (2008), realizaron pruebas similares con carne congelada y fresca sometida a diferentes valores de API (Fig. 17), y obtuvieron resultados similares. Se observó un efecto de decoloración relacionado con el aumento de presión, y también se observó que los cambios en la carne congelada ocurren de forma ligeramente menos pronunciada, lo cual sugiere que la

disponibilidad de agua influye en la modificación del color por las APIs. En general, la presión causa cambios dramáticos en el color de la carne fresca y por lo tanto hace difícil la comercialización de la carne cuando ésta no tiene el color típico de la carne fresca (Cheftel & Culioli, 1997).

Aun cuando el tratamiento por API induce modificaciones visibles en el color de la carne cruda, después de la cocción, la diferencia de color se reduce en gran medida (Jung, Ghoul & de Lamballerie Anton, 2003; Picouet et al., 2008), como se puede apreciar en la Figura 18. Lo anterior puede tener aplicaciones interesantes para la comercialización de la carne, por ejemplo, en restaurantes donde el consumidor únicamente perciba el color de la carne después de haber sido cocinada.

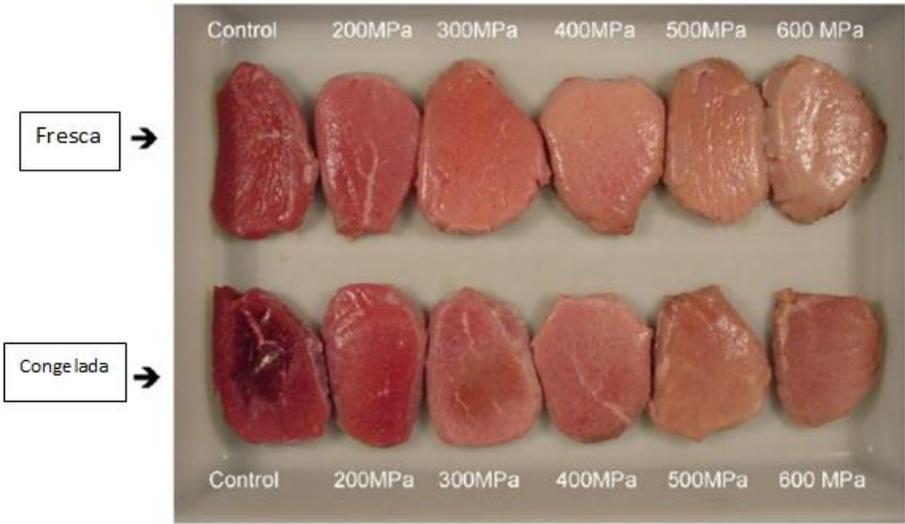


Figura 17. Efecto de la API sobre el color de la carne fresca y la carne congelada (Picouet et al., 2008.)

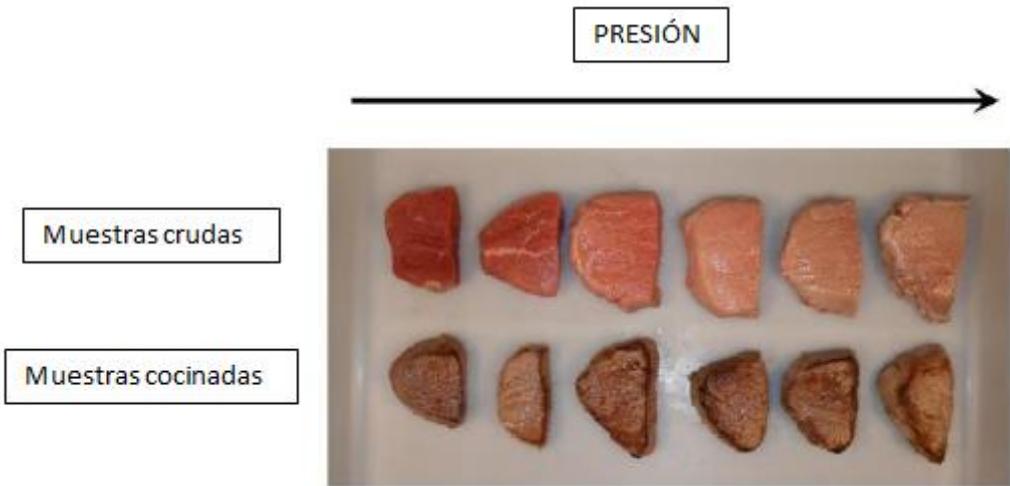


Figura 18. Efecto de la API sobre la carne presurizada después del freído (Picouet et al., 2008)

Por otro lado, estudios en productos cárnicos curados también han reportado cambios en el color: un incremento en la luminosidad ( $L^*$ ) y un decremento en el color rojo ( $a^*$ ) se han observado cuando los productos son tratados con API. Recientemente, se ha reportado que estos cambios pueden estar relacionados con su contenido de agua y su pH. Ferrini, Comaposada, Arnau & Gou (2012), reportaron que la API provocó el aumento de  $L^*$  y la reducción de  $a^*$  y  $b^*$  sólo en el jamón curado con un elevado contenido de agua, lo anterior quizás se deba a una mayor exposición de los dominios de la proteína que la hacen más susceptible a la desnaturalización. Resultados comparables fueron obtenidos por Bak et al. (2012), quienes estudiaron los cambios de color en el jamón reestructurado y mostraron que los valores de  $L^*$  y  $a^*$  no fueron modificados por la API en condiciones de baja  $a_w$  y pH elevado. De igual forma, en un estudio reciente se concluyó que la adición de carbonato de sodio (aumento de pH), aun a concentraciones bajas, mejoró la estabilidad del color en productos cárnicos marinados procesados con API (Bajovic et al., 2012).

Picouet et al. (2008) también analizaron los efectos de la API en otros productos cárnicos de res empacados al vacío como cecina, carpaccio y *roast-beef*. Se reportó que los cambios de color fueron menos evidentes en los dos productos cocidos, principalmente en la cecina por tratarse, además, de un producto curado (baja  $a_w$ ), seguido del *roast-beef*. El carpaccio, en cambio, sí presentó cambios por tratarse de un producto crudo (Fig. 19).

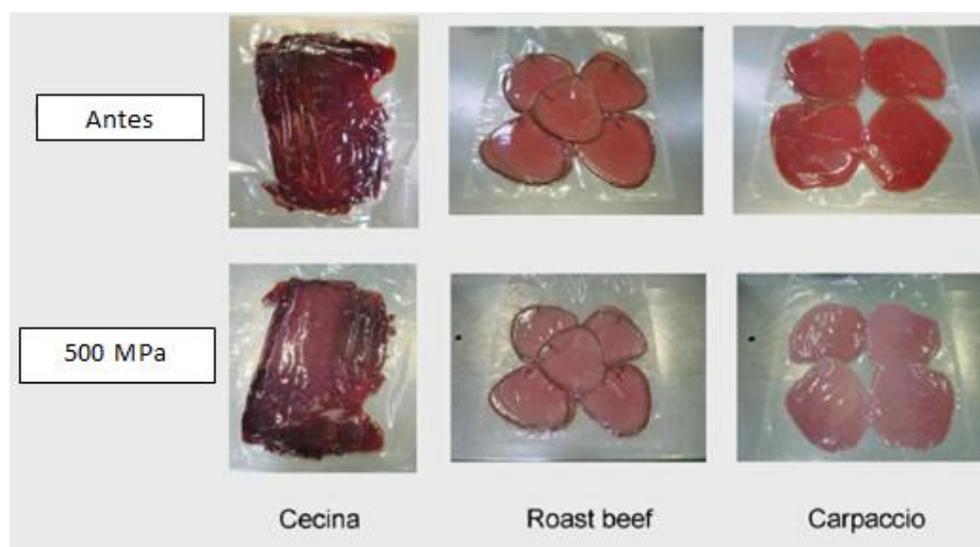


Figura 19. Efecto de la API sobre productos cárnicos de res, cocidos-curados (izq.), cocidos (en medio), y crudos (der.) (Picouet et al., 2008)

Así, de manera general, y en acuerdo con lo dicho por Clariana, (2011) el efecto de la API en el color es más pronunciado para la carne fresca, seguida de los productos cocidos, y en último lugar los productos curados, y curados-cocidos.

### c) Sabor

Una vez comprendido que los enlaces covalentes y las moléculas pequeñas no son afectadas por las APIs, es de esperar que el sabor se vea afectado mínimamente por este tratamiento. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, el efecto de las APIs sobre la oxidación de lípidos puede tener consecuencias negativas en su perfil sensorial (Ma & Ledward, 2013). Fuentes et al. (2010) llevaron a cabo un análisis sensorial y físico-químico de jamón curado Ibérico presurizado a 600 MPa, en el cual buscaron la presencia de compuestos derivados de la oxidación de lípidos como el pentanal, hexanal, heptanal, entre otros, todos ellos derivados de los hidroperóxidos que se forman en las etapas tempranas de la oxidación. Los resultados mostraron que los productos presurizados presentaron niveles mayores de dichos compuestos, lo cual se relacionó directamente con características sensoriales negativas percibidas como el sabor y olor a “rancio”. Asimismo, se observó un aumento en la percepción de los gustos salado y amargo, y el sabor a “curado”. Clariana (2011) coincidió en que el jamón curado presurizado presentó un aumento en la percepción del gusto salado.

Por otro lado, en un estudio realizado por Suzuki et al. (1992, citado por Ledward et al., 1995) en el cual se trató carne de bovino post-rigor, a pesar de la disminución de la actividad de las aminopeptidasas, se observó un aumento en la cantidad de aminoácidos libres y de péptidos, lo cual también podría contribuir al sabor de la carne. Es posible que esto ocurra debido al aumento de proteasas lisosomales, como se describió anteriormente. También hay que recordar que los aminoácidos libres pueden combinarse con los carbonilos generados en la oxidación de los lípidos y las proteínas formando aldehídos de posible influencia en el sabor de la carne por la vía de la degradación de Strecker. Campus, Flores, Martínez & Toldrá (2008) detectaron la disminución de los compuestos de sabor producidos por la reacción de Maillard (como el 3-metil-butanal) en lomo curado de cerdo tratado a 300 MPa, 20 °C, en comparación con el control; y Fuentes et al. (2010) no detectaron incremento en estos compuestos en el jamón procesado mediante API;

por lo que se cree que esta reacción no es favorecida por la API, al menos a temperatura ambiente.

En el sabor el aroma juega un papel importante, y es por ello diversos autores se han dado a la tarea de analizar los compuestos volátiles de la carne tratada con API. Schindler et al. (2010) emularon las condiciones de masticación para analizar los compuestos volátiles liberados y no encontraron diferencias entre el perfil de aroma de la carne de pollo presurizada (600 MPa) después de 14 días de almacenamiento, y el de la carne fresca sin tratamiento. Rivas-Cañedo, Juez-Ojeda, Núñez & Fernández García (2011) encontraron que las muestras de carne molida de res cocida y presurizada previamente, presentaron un perfil más similar al típico de la carne fresca, que la carne control después del tiempo de almacenamiento en refrigeración.

También se ha demostrado que el material de empaque puede ser de gran relevancia en la modificación del sabor durante el tratamiento con API. Rivas-Cañedo, Núñez & Fernández García (2009) detectaron en salchichón tratado a 400 MPa una migración intensa de los compuestos del empaque plástico hacia el producto, causando alteraciones en los perfiles volátiles y por lo tanto en el sabor. Es por lo tanto, importante hacer una adecuada selección del material para evitar este tipo de alteraciones.

#### 3.2.4 Efecto de la API sobre el valor nutrimental

De manera generalizada se considera que el valor nutrimental de los alimentos tratados por API permanece inafectado (Bajovic et al., 2012; Simonin et al., 2012). Recordemos que la API no modifica las moléculas de bajo peso molecular, tales como aminoácidos y vitaminas. Esto se considera como una de las más grandes ventajas que ofrece el tratamiento de alimentos por API, ya que muchos de los nutrientes, principalmente las vitaminas, son sumamente termolábiles y se pierden en los procesos de tratamiento térmico.

Por otra parte, la disponibilidad y digestibilidad de algunos nutrientes sí puede ser modificada como producto de reacciones entre los componentes de los alimentos fomentados por la API. En el caso de la carne y de los productos cárnicos las

reacciones de mayor importancia son la oxidación de lípidos y de proteínas. Fuentes et al. (2010) encontraron productos de la oxidación de proteínas en jamón tratado con API. Dicha reacción involucra la pérdida de aminoácidos esenciales como lisina y arginina, además de que causa una disminución en la digestibilidad, afectando el valor nutrimental. No obstante, las reacciones de oxidación pueden ser controladas usando antioxidantes o quelantes de metales como el citrato o el EDTA. Otras opciones son limitar la disponibilidad de oxígeno en el empaque, el uso de empaques con antioxidantes, o el uso de antioxidantes naturales como los derivados de tomate y el romero (Bajovic et al., 2012)

### 3.2.5 Efecto de la API sobre los microorganismos de la carne

Se cree que la mayor causa del daño que producen las API sobre los microorganismos se debe a la modificación de las moléculas de la membrana de la célula, que a su vez provocan permeabilidad de ésta (Ledward et al., 1995). Sin embargo, el efecto letal de las API sobre las células vegetativas de microorganismos se atribuye no sólo al daño de la membrana celular, sino también a la inactivación de enzimas clave, incluyendo aquellas involucradas en la replicación y en la transcripción del ADN (Bajovic et al., 2012).

Las API han funcionado exitosamente en la inactivación de microorganismos en alimentos de pH ácido, como jugos y salsas, así como en soluciones salinas tamponadas (*buffer*) de fosfatos (Ledward et al., 1995); sin embargo, en el caso de alimentos de pH neutro o cercano a la neutralidad, que se encuentran menos protegidos intrínsecamente y además cuentan con una gran disponibilidad de nutrientes y alta actividad de agua, como el caso de la carne y algunos productos cárnicos, deben hacerse otras consideraciones como la sensibilidad a la presión de los microorganismos, la variabilidad entre cepas, así como los diversos factores extrínsecos e intrínsecos que influyen en la letalidad y en la tolerancia de los microorganismos a la API.

Adicionalmente, en la realización de estudios sobre sustratos cárnicos es importante considerar que la inoculación de bacterias en la carne puede llevar a la sobreestimación de la efectividad de las altas presiones. Carlez y colaboradores (1994, citado por Kerry et al., 2002) encontraron que en la carne molida la microbiota

nativa de la carne fue más resistente que la inoculada. Adicionalmente, se debe considerar

### 3.2.5.1 Sensibilidad a la presión

En relación con la sensibilidad a la presión, también llamada barosensibilidad o manorresistencia, los microorganismos pueden ordenarse de menos a más resistentes, en: mohos y levaduras < bacterias Gram negativas < virus con envoltura < hongos < bacterias Gram positivas < virus desnudos < esporas bacterianas (Ordóñez-Pereda et al., 2004). Asimismo, en general, las células de microorganismos en la fase exponencial son más sensibles a la presión que aquellas que se encuentran en la fase lag o estacionaria (Ledward et al., 1995).

Se ha postulado que, como la estructura de la membrana plasmática es más compleja en las Gram negativas, la célula bacteriana es más sensible a los agentes externos, entre ellos, la presurización (Shigehisa et al., 1991). Entre los microorganismos patógenos de relevancia en la carne más tolerantes a la presión se encuentran *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *E. coli* O157:H7, todos ellos Gram negativos.

Por otro lado, la gran manorresistencia de las esporas se ha relacionado con el estado deshidratado o incluso potencialmente vítreo del protoplasto, el cual le confiere resistencia a sustancias químicas y agentes físicos y se mantiene durante el tratamiento de API (Ordóñez-Pereda et al., 2004). Algunas esporas pueden sobrevivir aun a presiones mayores que 1000 MPa (Cheftel & Culioli, 1997).

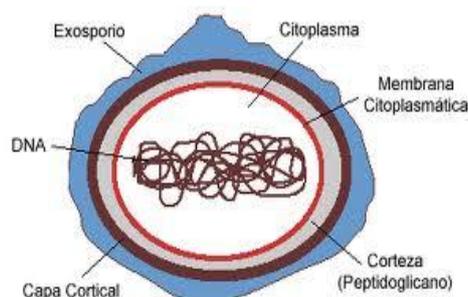


Figura 20. Esquema simplificado de la estructura de una espora bacteriana (lookfordiagnosis, sin año)

Otros factores responsables de la alta resistencia de las esporas son, entre otros; la estructura de su corteza (Fig. 20), que se caracteriza por una capa gruesa de peptidoglicano, la cual le confiere una muy baja permeabilidad a las moléculas hidrofílicas; el gran contenido de minerales ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y ácido dipicolínico (DPA) en el núcleo; así como la actividad de los mecanismos de reparación de ADN durante la germinación (Doona & Feeherry, 2007). En general, las esporas más resistentes al calor son también sumamente resistentes a la presión (Moerman, Mertens, Demey & Huyghebaert, 2001), aunque esto no siempre se cumple.

### 3.2.5.2 Factores extrínsecos e intrínsecos de influencia en la letalidad ejercida por la API

Numerosos factores extrínsecos e intrínsecos pueden afectar en gran medida la tolerancia a la presión. Entre los principales factores extrínsecos se encuentra la temperatura, el nivel de presurización, el tiempo de tratamiento y la presencia de sustancias antimicrobianas; los factores intrínsecos de importancia son el pH, la  $a_w$  y el contenido de sales (Ledward, et al. 1995; Ordóñez-Pereda et al., 2004).

A continuación se presenta información más detallada sobre el efecto individual de los factores mencionados. Es importante mencionar que en algunos casos variaciones considerables se encuentran reportadas por diferentes autores y esto se puede deber a diversos factores como son: diferentes condiciones experimentales, el estado fisiológico de las células estudiadas, variaciones de la cepa o las condiciones precisas de presurización (Ledward et al., 1995).

#### a) *Temperatura*

Se ha reportado por múltiples autores una marcada sinergia entre la API y la temperatura (Fig. 21). En algunos casos, es necesario combinar ambos, calor y presión, para inactivar por completo los microorganismos de los sistemas alimentarios. Por ejemplo, se ha comprobado que, para poder inactivar a las esporas, se requiere combinar presión y temperaturas moderadamente elevadas entre 60-90 °C (Ledward et. al., 1995).

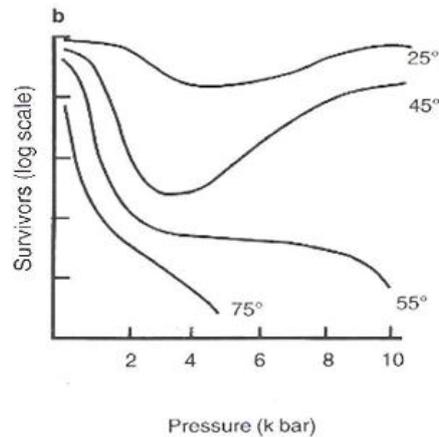


Figura 21. Efecto sinérgico generalizado de temperatura y presión sobre la inactivación de esporas bacterianas (Ledward et al., 1995)

Asimismo, debido a esta sinergia, las API pueden ser usadas para reducir los tiempos o las temperaturas de tratamiento térmico de ciertos productos. Así lo proponen Moerman, Mertens, Demey & Huyghebaert (2001) para tiras de carne de cerdo; y El Moueffak, Cruz, Antoine y Montury (1993, citado por Ledward et al., 1995), para el *paté de foie gras*.

#### b) Nivel de presurización

En general, la inactivación de microorganismos aumenta de manera directamente proporcional al aumento de la presión aplicada; sin embargo, el aumento en la duración del tratamiento no necesariamente aumenta la letalidad (Hendrickx & Knorr, 2002).

#### c) pH

En general, la susceptibilidad a la presión aumenta visiblemente cuando los valores de pH se alejan de la neutralidad. Se cree que la API altera ciertas proteínas en la membrana que impiden que la célula regule el flujo de protones causando una incapacidad de mantener la homeostasis (Rendueles et al., 2011). Adicionalmente, las células dañadas tienen menos probabilidad de recuperarse en ambientes ácidos o básicos (Doona & Feeherry, 2007).

#### *d) $a_w$ y contenido de sal*

Valores bajos de  $a_w$  aumentan la resistencia microbiana a la API. Este fenómeno se ha observado tanto en sistemas sintéticos (buffer), como en alimentos. La eficacia de la inactivación de API decrece en alimentos con una  $a_w$  igual o menor que 0.9. Adicionalmente, los solutos iónicos como el NaCl o el CaCl<sub>2</sub> se consideran baroprotectores, en comparación con otros solutos no iónicos como la sacarosa o el glicerol (Rendueles et al., 2011). Esto es de importancia en el caso de los productos cárnicos curados como el jamón.

#### *e) Presencia de antimicrobianos y otras sustancias*

Otras posibles combinaciones con otros métodos de conservación incluyen la adición de ácido sórbico y/o benzoico, lizozima o quitosano. Estas combinaciones pueden aumentar el efecto de inactivación microbiana y permiten el uso de menores intensidades de presión y temperatura, así como tiempos de tratamiento menores (Cheftel & Culioli, 1997). Las bacteriocinas como la nisina y la pediocina sensibilizan a las bacterias Gram negativas frente a las altas presiones, lo cual se podría explicar por la interacción que tienen con la membrana, permitiendo que la presión se propague con más facilidad (Ordóñez-Pereda et al., 2004). El sistema lactoperoxidasa también ha mostrado ser eficaz en conjunto con la API en bacterias patógenas y alterantes (García-Graells et al., 2003, citado por Ordóñez-Pereda et al., 2004). Se ha estudiado también la acción combinada de API con carvacrol (Karatzas et al., 2001, citado por Ordóñez-Pereda et al., 2004); así como el efecto sinérgico de la nisina y la lizozima (Mangalassary, Han, Rieck, Acton & Dawson, 2008) frente a diversas bacterias, observándose una notoria sinergia entre ellos y las API, aunque es posible que estas combinaciones sean menos aceptadas por los consumidores, debido a la tendencia que predomina actualmente hacia los alimentos frescos, libres de conservadores y mínimamente procesados.

#### 3.2.5.3 Curvas de destrucción de microorganismos

Las cinéticas de inactivación de las curvas de destrucción son otro de los factores importantes por considerar para determinar las mejores condiciones de tratamiento por API que nos permitan producir alimentos microbiológicamente seguros. La variación en la respuesta a la API que presentan los microorganismos de una matriz alimentaria a otra, ha dificultado la producción de curvas de destrucción confiables.

Se han reportado cinéticas de primer orden para la inactivación de diversas bacterias por aplicación de API; sin embargo, algunos otros autores han reportado desviaciones (Ledward et al., 1995). De manera general, las cinéticas desviadas del primer orden presentan los siguientes comportamientos:

- En algunas se observa un “hombro” inicial para, en algunos casos, después seguir un curso logarítmico o cuasi logarítmico.
- En otras, el modelo de destrucción que muestra la gráfica se desvía de la linealidad y en el tramo final se observan “colas” que denotan la sobrevivencia y recuperación de las bacterias. Este último comportamiento es el más comúnmente observado en numerosos artículos.

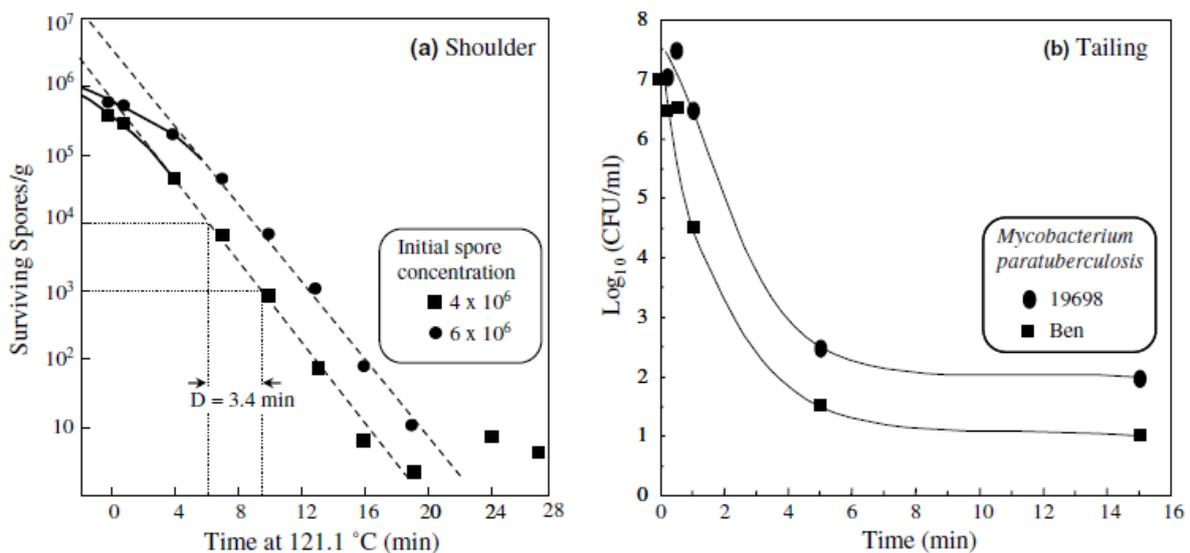


Figura 22. Ejemplos de las desviaciones de “hombro” (izquierda) y “cola” (derecha) en la inactivación de microorganismos (Torres & Velázquez, 2005).

Ritz et al. (2000) plantearon que, a diferencia de la destrucción térmica, ambos fenómenos no pueden explicarse a través de la formación de agregados celulares de células muertas que otorgan protección a las células vivas, ya que iría en contra del principio de Pascal y de la aplicación homogénea e isostática de la presión. Argumentaron, por otra parte, que estas cinéticas sí demuestran la heterogeneidad de los cultivos bacterianos, donde es clara la existencia de subpoblaciones resistentes. Torres & Velázquez (2005) establecieron la necesidad de realizar estudios más profundos para comprender por qué ocurren estos fenómenos.

#### 3.2.5.4 Cálculo del valor de reducción decimal (D)

Las cinéticas desviadas del primer orden dificultan el cálculo del valor de reducción decimal (D), el cual ya ha sido usado con éxito para determinar los tiempos de tratamiento en el procesamiento térmico de los alimentos. Éste se define como el tiempo requerido a una temperatura en particular para reducir el número de un microorganismo en particular por 1 ciclo logarítmico, y para calcularlo se suponen cinéticas de primer orden en las curvas de destrucción. En el caso de la API, la falta de una relación directamente proporcional entre la reducción  $\log_{10}$  y el tiempo de tratamiento, impiden el cálculo del valor D, ya que éste es calculado como el recíproco de la pendiente de dicha relación (Ledward et al., 1995). Este problema, no obstante, puede solucionarse usando una ecuación exponencial adecuada que se ajuste a la información obtenida y así poder estimar los tiempos necesarios para reducir los números de microorganismos sobrevivientes por varios factores de 10. Por ejemplo, Zhu, Naim, Marcotte, Ramaswamy & Shao (2008) propusieron un modelo de regresión ajustado que permite predecir los valores D y el tiempo de muerte térmica para *C. sporogenes* a condiciones determinadas de presión y temperatura en carne de res.

#### 3.2.5.5 Efecto de las API sobre virus y parásitos

Se han estudiado los efectos de presiones hidrostáticas elevadas en varias cepas de virus (Ordóñez-Pereda, 2004). La alta presión desnaturaliza las proteínas de las cápsides víricas. Dependiendo de la presión ejercida, esta desnaturalización puede ser reversible o irreversible. Se ha empleado API para inactivar el virus de la estomatitis vesicular, así como rotavirus bovinos y de simio (Silva et al., 1992, citado por Ordóñez-Pereda, 2004). Los virus como el del mosaico del tabaco son sumamente resistentes a la presión (920 MPa); mientras que presiones de 450 MPa pueden producir una reducción de 6 log del virus de la Hepatitis A. El rotavirus humano y el calcivirus felino son más sensibles a las API que los anteriores (Doona & Feeherry, 2007). La API también tiene la capacidad de inactivar a parásitos en los músculos de animales tales como *Trichinella spiralis* (Ledward et al., 1995) o *Toxoplasma gondii* (Aymerich et al., 2008).

### 3.2.6 Efecto de la API sobre la vida de anaquel de la carne y los productos cárnicos

Los efectos letales de la API sobre los microorganismos de la carne no solo hacen su consumo más seguro frente a los organismos patógenos, sino también prolongan de manera notable su vida de anaquel. Al reducir el número de bacterias aerobias, e.g. *Pseudomonas fluorescens*, que como se señaló anteriormente, son las principales responsables del deterioro de la carne fresca, se retrasa la descomposición, y resulta en vidas de anaquel que van aproximadamente de 30 hasta 100 días en refrigeración, dependiendo del grado de reducción logrado y de la presión aplicada. Sánchez-Basurto (2012) reportó una vida de anaquel de 45 días a 4 °C para un corte de carne de bovino (*Psoas mayor*) tratado a 345 MPa; mientras que Garriga et al. (2004, citado por Aymerich et al., 2008) observaron para lomo marinado de res tratado a 600 MPa una vida de anaquel de 120 días a 4 °C. En la Tabla D, ubicada en el Anexo del presente trabajo existe información adicional sobre la reducción de la microbiota total y alterante de la carne y los productos cárnicos tratados con API, así como la extensión de la vida de anaquel.

## **Capítulo 4. Oportunidades y retos del uso de API en la industria cárnica**

Los estudios recientes centrados en la inactivación de microorganismos por API demuestran que, de manera general, niveles de presión de 400-600 MPa, con tiempos de procesamiento de 3 a 7 minutos, pueden ser usados para conseguir la inactivación de más de 4 unidades logarítmicas de los microorganismos vegetativos patógenos y alterantes más comunes (Tablas C y D, Anexo).

Por otro lado, tomando en cuenta los diversos factores que intervienen en el procesamiento de la carne y los productos cárnicos mediante API mencionados en los capítulos anteriores de este trabajo y en las Tablas E y F del Anexo, es posible resumir que los efectos de la API en la carne, a temperatura ambiente, son los siguientes:

- A 200 MPa, las proteínas miofibrilares se desnaturalizan
- A 400 MPa se producen cambios en el color
- A 400 MPa se incrementa la oxidación de lípidos

Por lo tanto, es claro que presiones de 400 MPa son críticas en la mayoría de los casos para provocar el deterioro sensorial y nutricional de la carne. Los tratamientos empleados en los productos cárnicos para preservar su seguridad microbiológica deben tenerlo en cuenta, y hay que ser muy cuidadosos para evitar pérdidas económicas y rechazo por parte del consumidor.

### *4.1 Aplicaciones en la conservación de carne y productos cárnicos*

#### **4.1.1 Pasteurización mediante API**

En la pasteurización mediante el uso de API, la presión es usada para inactivar a los microorganismos patógenos de los alimentos y así obtener un producto más seguro. Adicionalmente, y como se mencionó previamente, permite aumentar la vida de anaquel de los productos almacenados en refrigeración, debido a la inactivación de las células bacterianas vegetativas. Mediante la pasteurización con API se producen cambios menos drásticos en las características del producto como son el sabor, la textura, el color y el valor nutrimental, en comparación con la pasteurización con calor (Doona & Feeherry, 2007).

Para cumplir los objetivos del proceso, es necesario establecer límites y parámetros microbiológicos que permitan asegurar la inocuidad de los productos. Para ello, la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos (ICMSF, por sus siglas en inglés), ha propuesto un sistema para prevenir los riesgos microbiológicos en los alimentos, dentro del cual se localiza el concepto de objetivo de seguridad alimentaria (FSO, por sus siglas en inglés). Dicho concepto traduce los riesgos de contraer enfermedades transmitidas por microorganismos patógenos en una cifra específica; es decir, una concentración microbiológica máxima en los alimentos al momento del consumo, la cual permite un nivel apropiado de protección a la salud (Cole, 2004).

Los microorganismos “objetivo” de la pasteurización, es decir, aquellos que con su destrucción aseguran la del resto de los microorganismos patógenos, deben ser los más resistentes a la API. Estos son, según se revisó anteriormente, *E. coli* O157:H7 y, *L. monocytogenes*, aunque este último se considera de mayor importancia debido a su capacidad de multiplicarse en temperaturas de refrigeración, ya que son las condiciones que predominan en el almacenamiento de la carne y los productos cárnicos.

Así, de acuerdo con la dosis infectiva de *L. monocytogenes*, la gravedad de la enfermedad que ocasiona, los datos acerca de los brotes que han ocurrido, y los criterios microbiológicos, se ha concluido que para conseguir en cada caso, el correspondiente FSO en productos cárnicos crudos y en productos “listos para el consumo” (RTE), se requiere un tratamiento que logre, respectivamente 6 y 4 reducciones decimales de *L. monocytogenes* (Ordóñez-Pereda et al., 2004).

Los productos RTE requieren especial atención debido a que, aun cuando la temperatura de tratamiento térmico (> 75 °C) que se utiliza en la mayoría de la elaboración de los productos cárnicos cocidos como las salchichas Frankfurt, mortadela, jamón cocido, y otros se considera suficiente para destruir bacterias alterantes y patógenas, algunos de estos productos se envasan después de calentarlos y muchos de ellos se manipulan para su venta a granel, incluso cortándolos para preparar otros platillos. En estos casos puede producirse la recontaminación por *L. monocytogenes*.

La pasteurización por API se practica actualmente con éxito en la industria cárnica, debido a los excelentes resultados que ha mostrado en la inactivación de *L. monocytogenes* durante el almacenamiento en refrigeración (Fig. 23).

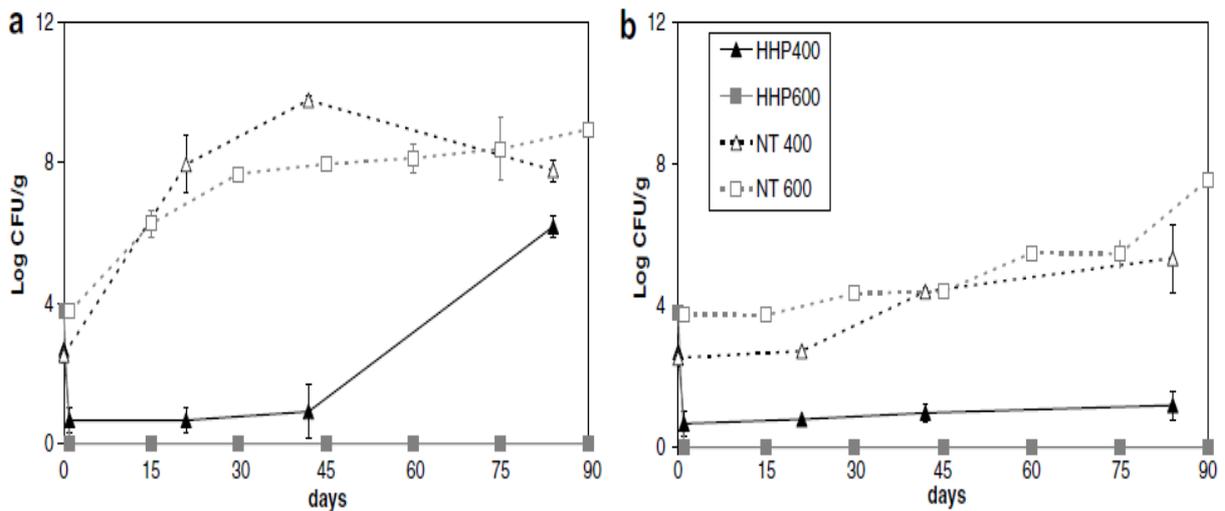


Figura 23 .Comportamiento de *L. monocytogenes* en jamón cocido sometido a API (HHP) o no (NT) almacenado a 6 °C (izquierda) y 1 °C (derecha). (Aymerich et al., 2008)

Los productos pasteurizados con API en la industria hoy día son muy diversos, pero han prevalecido los productos cárnicos RTE como jamón y salchichas, sobre los productos crudos (Tabla 5). Como se mencionó, los primeros requieren una menor reducción decimal de *L. monocytogenes* que los segundos, pues se considera que la probabilidad de que los patógenos alcancen aleatoriamente el producto tras su procesado es menor (Ordóñez-Pereda et al., 2004). Por lo tanto, los productos cárnicos requieren de condiciones de tratamiento menos drásticas, las cuales interfieren mínimamente con sus características sensoriales. Es importante recordar que, aunado a ese hecho, los cambios inducidos por la API en las propiedades sensoriales son menos drásticos en los productos cárnicos *per se*, por lo que los consumidores tienen menor probabilidad de rechazarlos. Ejemplos de las condiciones de proceso empleadas en la pasteurización de productos cárnicos se encuentran agrupados en la Tabla G ubicada en el Anexo de este trabajo.

Lo mencionado anteriormente, no obstante, no ha impedido a compañías como Cargill® y Perdue Farms® el lanzamiento de productos crudos pasteurizados con

API como la carne de hamburguesas Fressure® y las tiras de pollo para freír (Tabla 5).

Tabla 5. Ejemplos de compañías que han adoptado el uso de API para la pasteurización de los productos cárnicos (Bajovic et al., 2012).

País	Compañía	Producto
Rumania (2011)	Cris Tim®	Salchichas fermentadas
Países Bajos (2010)	Zwanenberg®	Filete americano, carne tártara, carpaccio.
Estados Unidos (2011)	Cargill®	Carne de hamburguesa (Fressure®)
Grecia (2010)	Creta Farm®	Carnes frías sumergidas en aceite de oliva extra virgen
Estados Unidos (2011)	Perdue Farms®	Tiras de pollo
Grecia (2010)	Infantis®	Carne curada rebanada procesada (mortadella, jamón, salami)
Estados Unidos	Tyson Foods®	Pollo rostizado
Reino Unido (2011)	Deli 24®	Botanas de carne y queso
Estados Unidos (2001)	Hormel®	Productos cárnicos <i>Natural Choice</i> ®
Estados Unidos (2011)	Columbus Foods®	Carnes frías fermentadas
España (2002)	Campofrio®	Jamón grueso rebanado, productos de pollo y pavo, jamón serrano y cocido, chorizo
Canadá	Santa Maria Foods®	Carne curada rebanada cruda y cocida.

Adicionalmente, los fabricantes de productos cárnicos de Estados Unidos y de otros países que deseen exportar sus productos hacia dicho país, deben obligatoriamente desde 2003 usar un tratamiento “post-letal” como parte de la política de “tolerancia cero” hacia *L. monocytogenes* iniciada en 1989. Por tratamiento “post-letal” se entiende que no se consideran los tratamientos térmicos durante el proceso. Para cumplir con este requisito, muchos fabricantes utilizan la pasteurización “post-empaque” de sus productos, en la cual requiere una reducción de mínimo 2 log del microorganismo y puede ser realizado, ya sea mediante una pasteurización térmica, o mediante la aplicación de API (FSIS, 2012). La mayoría de los productores no desea poner en riesgo las características sensoriales del producto con un

tratamiento térmico adicional (60-80 °C), por lo que este hecho también ha alentado a los fabricantes a optar por la API como método de pasteurización.



Figura 24. Ejemplo de productos pasteurizados mediante API (Hiperbaric, 2012).

#### 4.1.2 Esterilización comercial mediante API

La esterilización de los alimentos tiene por objetivo otorgar seguridad microbiológica y estabilidad a los alimentos en condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente. El hacerlo supone la eliminación de las células vegetativas de los microorganismos y de las esporas capaces de crecer en el producto en las condiciones que predominen en el almacenamiento y distribución. Sin embargo, como se mencionó previamente, la tolerancia extrema a la presión que presentan las esporas de algunas especies representa el principal obstáculo para alcanzar este objetivo.

En la industria del procesamiento térmico se requiere de una reducción de 12 ciclos logarítmicos ( $10^{12}$ ) de las esporas de la cepa proteolítica de *Clostridium botulinum* (Ledward et al., 1995) para lograr la esterilización comercial de alimentos de baja acidez, por ser el microorganismo patógeno esporulado más resistente a la

temperatura, y que además puede crecer en las condiciones que prevalecen en una lata: la anaerobiosis. En el procesamiento por API, las condiciones predominantes son el empacado al vacío, por lo que al igual que en el procesamiento de productos enlatados, la anaerobiosis es un factor común. Lo anterior, aunado a que las esporas de *Clostridium botulinum* se encuentran entre las más resistentes a la presión, permite sugerir que la esterilización comercial de alimentos de baja acidez, como la carne y los productos cárnicos, también sea realizada usando a dicho microorganismo como referencia.

La esterilización comercial mediante la aplicación de API se encuentra en fase experimental, y actualmente, el encontrar los métodos y condiciones adecuados para lograr la inactivación de las esporas bacterianas mediante el uso de API es objeto de arduo estudio e investigación. Desde 1970, Gould & Sale (citado por Ledward et al., 1995) propusieron un mecanismo para la inactivación de las esporas como se indica a continuación: las esporas son estimuladas hacia la germinación a bajas presiones y temperaturas moderadas (<100 MPa, 40 °C), por lo que una vez ocurrido esto, las esporas germinadas son más vulnerables y pueden ser eliminadas con un segundo tratamiento por API, con presiones del orden de 400-600 MPa para inactivarlas. Este método es de especial interés para la preservación de nutrientes debido a que ocurre a temperaturas cercanas a la ambiente, y ha sido retomado recientemente por Reineke et al. (2012).

Por otro lado, se ha estudiado la combinación de API (> 700 MPa) y temperaturas elevadas (> 100°C) para esterilizar a los alimentos. A principios de la década pasada se otorgaron patentes en Estados Unidos que describen métodos para lograrlo (Wilson & Baker, 2000; Meyer, 2000). En ellas, se incluyen diversas combinaciones de API, ciclos de presurización, temperatura y tiempos de tratamiento para inactivar a las esporas bacterianas, lo que permitió lograr una reducción de 12D de *C. botulinum*. Lau & Turek (2007) aplicaron los procedimientos descritos en las patentes mencionadas para esterilizar comercialmente muestras de pollo, salmón, huevo y chícharo, todos ellos alimentos de baja acidez, obteniendo vidas de anaquel de más de 3 meses sin necesidad de refrigeración y mejores características sensoriales que las de los mismos productos esterilizados térmicamente en retorta. .

Desafortunadamente, son pocas las unidades experimentales que existen capaces de operar bajo las condiciones que se consideran necesarias para esterilizar a los alimentos de baja acidez; éstas son: 700-1000 MPa y temperaturas de 70-90 °C. Actualmente, el límite tecnológico de los equipos comerciales de API es de aproximadamente 680 MPa, ya que no existen equipos comerciales capaces de trabajar a presiones superiores. No obstante, se espera que la próxima generación de equipos comerciales sea capaz de operar en condiciones de 700 MPa y 100 °C para poder inactivar a las esporas bacterianas (Torres & Velázquez, 2005).

#### 4.1.3 Ejemplo práctico de integración de la API en la industria

A continuación se presenta un ejemplo que ilustra la posibilidad de integrar el uso de API rutinariamente en el procesamiento de alimentos para aprovechar al máximo sus beneficios principales que son: a) aumento de la seguridad microbiológica; b) creación de texturas novedosas; c) aumento de la vida de anaquel y d) preservación del valor nutrimental.

Heinz et al. (2009) propusieron el uso de API en la producción de salchicha de hígado de cerdo, un producto cárnico tradicional alemán. En la elaboración tradicional de este producto, debido a los tiempos prolongados de procesamiento a altas temperaturas, numerosos macro y micro nutrientes se pierden, por lo que sugirieron se reemplazasen las etapas de procesamiento térmico por etapas de procesamiento con API, como se muestra en la Figura 25.

El reemplazo de los tratamientos térmicos con API a 600 MPa por 2-5 minutos a temperatura ambiente está diseñado para desnaturalizar a las proteínas miofibrilares y crear características adecuadas de consistencia y textura. Un segundo tratamiento por API se lleva cabo para otorgar la seguridad microbiológica, incrementar la vida de anaquel y asegurar las características finales del producto. Como resultado, se obtienen salchichas significativamente más suaves y productos homogéneos con un mayor sabor a hígado, menor tiempo de proceso, menor gasto de energía, mayor preservación de los nutrimentos, mayor seguridad microbiológica y una vida de anaquel de más de 30 días.

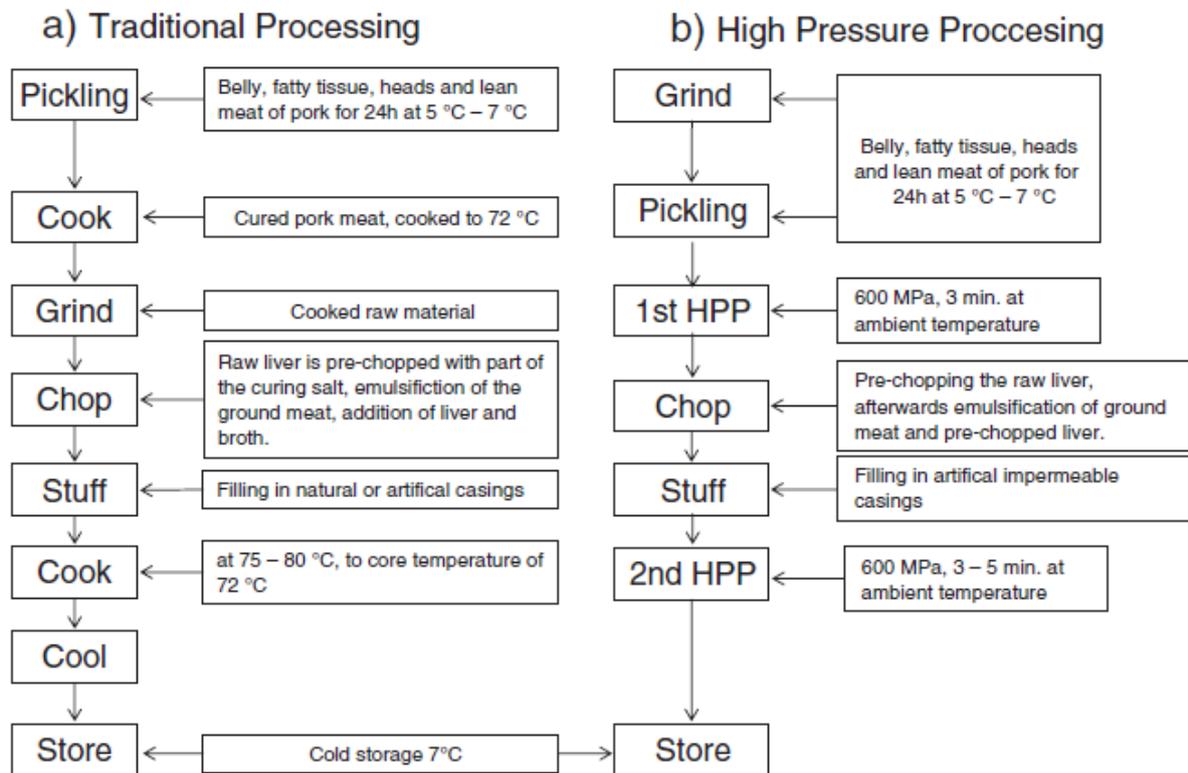


Figura 25. Comparación del proceso tradicional (izq.), con el proceso novedoso (der.) por API para la producción de salchichas de hígado (Bajovic et al., 2012)

## 4.2 Otras aplicaciones

### 4.2.1 Ablandamiento de la carne

La capacidad que tienen las API para aumentar la ternura de la carne pre y post-rigor, como se mencionó anteriormente, ha sido estudiada ampliamente y hoy en día se busca explotar con fines comerciales. Ma & Ledward (2013) realizaron un análisis extenso y comprensible para evaluar la posibilidad y potencialidad de su uso. Ellos llegaron a la conclusión que la aplicación de la API en carne pre-rigor es una opción económicamente viable, pues aunque requiere de la separación de la carne de la canal inmediatamente después del sacrificio, lo cual implica un costo adicional, los beneficios de aceleración del tiempo de maduración y el ablandamiento podrían compensarlo. Por el contrario, el ablandamiento mediante API de la carne post-rigor no parece ser beneficioso, ya que para lograrlo se requieren de altas temperaturas, por lo que es posible conseguir el ablandamiento a expensas de la pérdida de otros atributos como el color, sabor y valor nutrimental.

#### 4.2.2 Re-estructuración de productos cárnicos

Debido al efecto que tiene la API sobre la cohesividad de la carne, puede ser utilizada para mejorar la unión de los productos re-estructurados. La cohesividad de cubos de carne de cerdo mezclados con NaCl, tripolifosfato, glucono-delta-lactona y  $\kappa$ -carragenina mostró un efecto sinérgico con la API (200 MPa), debido a la creación de una red continua y estable de  $\kappa$ -carragenina en los cubos de carne (Hong et al., 2008, citado por Simonin et al., 2012). También se ha reportado sinergia entre la API y la transglutaminasa en la producción de carne reestructurada de pollo (Trespacios & Pla, 2009). Lo anterior tiene implicaciones importantes, ya que permite el desarrollo de productos bajos o libres de aditivos como la sal y los fosfatos. (Villamonte, Simonin, Durantón, Chéret & de Lamballerie-Anton, 2013).

#### 4.2.3 Congelación y descongelación

La congelación lenta resulta en la formación de grandes cristales de hielo que dañan la textura de los alimentos, mientras que una congelación rápida usualmente preserva la textura del alimento. La congelación rápida puede ser lograda usando API, debido a que el punto de fusión del agua decrece de 0 a  $-22^{\circ}\text{C}$  a 200 MPa. En estas condiciones el agua permanece en estado líquido. Cuando la presión es liberada, el agua se congela instantánea y homogéneamente, formando cristales de hielo muy pequeños. Este método se ha utilizado en carne de cerdo y ha demostrado la preservación de su textura frente a los métodos tradicionales de congelación (Kerry et al., 2002).

Bajo el mismo principio, la descongelación a altas presiones también ofrece numerosas ventajas en comparación con la descongelación a presión atmosférica, esto incluye la reducción del tiempo hasta 5 veces, así como la prevención del crecimiento de patógenos. Asimismo, se ha encontrado que la descongelación asistida por API preserva las características sensoriales de la carne de bovino (Kerry et al., 2002)

## CONCLUSIONES

La API como método para controlar la carga microbiana en productos cárnicos ha demostrado ser muy efectiva. Adicionalmente, su aplicación ofrece beneficios como la retención de nutrimentos, principalmente vitaminas, y otras características sensoriales como el sabor y el aroma, además de una extensión notable de la vida de anaquel (hasta 100 días en refrigeración). Como consecuencia, los fabricantes de alimentos pueden reducir los niveles de conservadores, los cuales son cada vez más rechazados por los consumidores. Otros beneficios relacionados con el uso de API son la modificación y la creación de texturas novedosas agradables para el público, y el ahorro de energía en la etapa de producción. Actualmente esta tecnología ya está siendo usada por numerosos fabricantes de alimentos en todo el mundo.

Por otro lado, las presiones necesarias para lograr la reducción de la microbiota (> 400 MPa) en muchos casos aceleran la oxidación de lípidos, y producen cambios en el color. Por lo tanto, el uso de la API en productos que se venden normalmente crudos está limitado, ya que cualquier efecto secundario que pueda producir el tratamiento podría afectar negativamente la apariencia y ocasionar pérdidas en el mercado; en contraste, los productos cárnicos cocidos o procesados son más tolerantes a pequeños cambios sin ser rechazados por el consumidor, y por ello son el principal objeto de comercialización de esta tecnología.

Es claro que los principales retos que afronta la API en el futuro son el desarrollo de métodos que permitan disminuir los efectos secundarios en los productos tratados. Se requiere más investigación que permita definir las causas exactas que desencadenan las reacciones de deterioro e identificar soluciones. Actualmente las investigaciones apuntan hacia el uso de empaques inteligentes, reformulaciones de productos y modificaciones en los procesos para lograr minimizar estos cambios. La esterilización comercial, es otro de los principales retos, y aunque todavía se encuentra en fase experimental, es cada vez más palpable, e igualmente es objeto de numerosas investigaciones en la actualidad, con el fin de comprender los factores implicados en el mecanismo de inactivación con API de las esporas bacterianas.

## REFERENCIAS

- (CDC) Centers for Disease Control and Prevention. (2011). Estimates of foodborne illness in the United States. Recuperado el 02/28, 2013, de <http://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>
- (FDA) Food and Drug Administration. (2011). Evaluation and definition of potentially hazardous foods. Recuperado el 02/28, 2013, de <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/SafePracticesforFoodProcesses/ucm094141.htm>
- (FSIS) Food Safety and Inspection Service. (2012). Listeria guideline. Recuperado el 03/29, 2013, de [http://www.fsis.usda.gov/PDF/Controlling\\_LM\\_RTE\\_guideline\\_0912.pdf](http://www.fsis.usda.gov/PDF/Controlling_LM_RTE_guideline_0912.pdf)
- (INCMNSZ) Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. (2000). Ingestión diaria recomendada (IDR) de energía, proteína vitaminas y minerales para la población mexicana. Recuperado el 03/28, 2013, de <http://www.facmed.unam.mx/deptos/salud/censenanza/spi/unidad2/micronut.pdf>
- (NOM-030-ZOO-1995) Norma Oficial Mexicana, Especificaciones y procedimientos para la verificación de carne, canales, vísceras y despojos de importación en puntos de verificación zoosanitaria.
- (WHO) World Health Organization. (2012). Hepatitis A, Fact sheet N°328. Recuperado el 03/21, 2013, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs328/en/index.html>
- Andrés, A.I., Moller, J.K.S., Adamsen, C.E., & Skibsted, L.H. (2004). High pressure treatment of dry-cured iberian ham. Effect on radical formation, lipid oxidation and colour. *European Food Research and Technology*, 219, 205-210.
- Bajovic, B., Bolumar, T., & Heinz, V. (2012). Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products. *Meat Science*, 92, 280-289.

- Bak, K.H., Lindahl, G., Karlsson, A.H., Lloret, E., Ferrini, G., Arnau, J., & Orlien, V. (2012). High pressure effect on the color of minced cured restructured ham at different levels of drying, pH, and NaCl. *Meat Science*, 90, 690-696.
- Barbosa-Cánovas, G.V., Pothakamury, U.R., Palou, E., & Swanson, B.G. (1998). *Conservación no térmica de alimentos* [Nonthermal preservation of foods] (Albert Ibarz Ribas Trad.). Zaragoza, España: Acribia.
- Bertucco, A., & Spilimbergo, S. (2001). Treating micro-organisms with high pressure. En: A. Bertucco, & G. Vetter (Eds.), *High pressure process technology: Fundamentals and applications*. (pp. 626-630). Países Bajos: Elsevier.
- Bolumar, T., Skibsted, L.H., & Orlien, V. (2012). Kinetics of the formation of radicals in meat during high pressure processing. *Food Chemistry*, 134, 2114-2120.
- Campus, M. (2010). High pressure processing of meat, meat products and seafood. *Food Engineering Reviews*, 2, 256-273.
- Campus, M., Flores, M., Martínez, A., & Toldrá, F. (2008). Effect of high pressure treatment on colour, microbial and chemical characteristics of dry cured loin. *Meat Science*, 80, 1174-1181.
- Carlez, A., Veciana-Nogues, T., & Cheftel, J.C. (1995). Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 28, 528-538.
- Chan, J.T.Y., Omana, D.A., & Betti, M. (2011). Application of high pressure processing to improve the functional properties of pale, soft, and exudative (PSE)-like turkey meat. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 12, 216-225.
- Cheah, P.B., & Ledward, D.A. (1996). High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. *Meat Science*, 43(2), 123-134.
- Cheftel, J.C., & Culioli, J. (1997). Effects of high pressure on meat : A review. *Meat Science*, 46(3), 211-236.

- Clariana, M. (2011). *Efecto de la aplicación de altas presiones hidrostáticas en un producto de origen animal, el jamón curado y en un producto vegetal, el nabo*. (Universitat de Girona). *Tesis de Doctorado*,
- Clariana, M., Guerrero, L., Sárraga, C., & García-Regueiro, J.A. (2012). Effects of high pressure application (400 and 900 MPa) and refrigerated storage time on the oxidative stability of sliced skin vacuum packed dry-cured ham. *Meat Science*, *90*, 323-329.
- Cole, M. (2004). Food safety objectives: Concept and current status. *Mitt. Lebensm. Hyg.*, *95*, 13-20.
- Crehan, C.M., Troy, D.J., & Buckley, D.J. (2000). Kinetics of the formation of radicals in meat during high pressure processing. *Meat Science*, *55*, 123-130.
- Damodaran, S., Parkin, K.L., & Fennema, O.R. (Eds.). (2008). *Fennema's food chemistry* Taylor & Francis.
- Doona, C.J., & Feeherry, F.E. (Eds.). (2007). *High pressure processing of foods*. Ames, IOW: Blackwell Publishing/IFT.
- Fennema, O.R. (2000). *Química de los Alimentos*. España: Acribia.
- Ferrini, G., Comaposada, J., Arnau, J., & Gou, P. (2012). Colour modification in a cured meat model dried by quick-dry-slice process® and high pressure processed as a function of NaCl, KCl, K-lactate and water contents. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, *13*, 69-74.
- Fuentes, V., Ventanas, J., Morcuende, D., Estévez, M., & Ventanas, S. (2010). Lipid and protein oxidation and sensory properties of vacuum-packaged dry-cured ham subjected to high hydrostatic pressure. *Meat Science*, *85*, 506-514.
- Guillermo-Chávez, A.N. (2011). *Efecto de las altas presiones sobre la oxidación de la fracción lipídica en carne de bovino*. (Universidad Nacional Autónoma de México). *Tesis de Licenciatura*.

- Hall, A.J., Vinjé, J., Lopman, B., Woo-Park, G., Yen, C., Gregoricus, N. & Parashar, U. (2011). Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. Recuperado el 03/21, 2013, de [http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmjavascript:void\(0\);wrhtml/rr6003a1.htm](http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmjavascript:void(0);wrhtml/rr6003a1.htm)
- Heinz, V., Knoch, A., & Lickert, T. (2009). Product innovation by high pressure processing. *New Food*, 2, 42-47.
- Hendrickx, M.E.G., & Knorr, D.W. (Eds.). (2002). *Ultra High Pressure Treatments of Foods* (12th ed.). New York, NY: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Hernández-Cortés, C., Aguilera-Arreola, M.G., & Castro-Escarpulli, G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 31(4), 137-157.
- Jung, S., de Lamballerie-Anton, M., & Ghoul, M. (2000b). Modifications of Ultrastructure and Myofibrillar Proteins of *Post-rigor* Beef Treated by High Pressure. *Lebensmittel.-Wissenschaft. und -Technologie*, 33, 313-319.
- Jung, S., Ghoul, M., & de Lamballerie-Anton, M. (2000a). Changes in lysosomal enzyme activities and shear values of high pressure treated meat during ageing. *Meat Science*, 56, 239-246.
- Jung, S., Ghoul, M., & de Lamballerie-Anton, M. (2003). Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 36, 625-631.
- Kerry, J.P., Kerry, J.F., & Ledward, D.A. (Eds.). (2002). *Meat processing: Improving quality*. Cambridge, Reino Unido: Woodhead Publishing.
- Lau, M.H., & Turek, E. (2007). Determination of quality differences in low-acid foods sterilized by high pressure versus retorting. En: C.J. Doona, & F.E. Feeherry (Eds.), *High Pressure Processing of Foods*. Ames, IOW: Blackwell Publishing/IFT.
- Lawrie, R.A. (1998). *Meat science* (6ta Edición ed.). Reino Unido: Woodhead Publishing.

- Ledward, D.A., Johnston, D.E., Earnshaw, R.G., & Hasting, A.P.M. (Eds.). (1995). *High Pressure Processing of Foods*. Loughborough, Reino Unido: Nottingham University Press.
- Ma, H.J., & Ledward, D.A. (2013). High pressure processing of fresh meat – is it worth it? *Meat Science*, *IN PRESS* doi: 10.1016/j.meatsci.2013.03.025
- Ma, H.J., Ledward, D.A., Zamri, A.I., Frazier, R.A., & Zhou, G.H. (2007). Effects of high pressure/thermal treatment on lipid oxidation in beef and chicken muscle. *Food Chemistry*, *104*, 1575-1579.
- Mangalassary, S., Han, I., Rieck, J., Acton, J., & Dawson, P. (2008). Effect of combining nisin and/or lysozyme with in-package pasteurization for control of listeria monocytogenes in ready-to-eat turkey bologna during refrigerated storage. *Food Microbiology*, *25*, 866-870.
- McNeill, S., & Van Elswyk, M.E. (2012). Red meat in global nutrition. *Meat Science*, *92*(3), 166-173.
- Meyer, R.S. (2000). *Ultra high pressure, high temperature food preservation process*. Estados Unidos: US Patent 6,177,115 B1.
- Moerman, F., Mertens, B., Demey, L., & Huyghebaert, A. (2011). Reduction of *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus* and *Streptococcus faecalis* in meat batters by temperature high hydrostatic pressure pasteurization. *Meat Science*, (59), 115-125.
- Moreno-García, B. (2006). *Higiene e Inspección de Carnes 1* (2da. Edición). España: Díaz de Santos.
- Mor-Mur, M., & Yuste, J. (2003). High pressure processing applied to cooked sausage manufacture: Physical properties and sensory analysis. *Meat Science*, *65*, 1187-1191.
- Nollet, L. M. (2012). *Handbook of meat, poultry and seafood quality* (2nd ed.). Reino Unido: John Wiley & Sons.

- Norton, T., & Sun, D. (2008). Recent advances in the use of high pressure as an effective processing technique in the food industry. *Food Bioprocess Technology*, 1, 2-34.
- Ordóñez-Pereda, J. A., Zurera-Cosano, G., Bosch-Navarro, A., Otero-Carballeira, A., & Guamis López, B. (2004). La aplicación de altas presiones en la carne. *Revista del Comité Científico de La AESA, AESA-2003-007*, 36-71.
- Picouet, P., Pérez-Juan, M., & Realini, C.E. (2008). High hydrostatic pressure technology on fresh beef and beef products. *Recerca I Tecnologia Agroalimentàries*, 1-5.
- Reineke, K., Doehner, I., Schlumbach, K., Baier, D., Mathys, A., & Knorr, D.W. (2012). The different pathways of spore germination and inactivation in dependence of pressure and temperature. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 13, 31-41.
- Rendueles, E., Omer, M.K., Alvseike, O., Alonso-Calleja, C., Capita, R., & Prieto, M. (2011). Microbiological food safety assessment of high hydrostatic pressure processing: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 1251-1260.
- Ritz, M., Jugiau, F., Rama, F., Courcoux, P., Semenou, M., & Federighi, M. (2000). Inactivation of *Listeria monocytogenes* by high hydrostatic pressure: Effects and interactions of treatment variables studied by analysis of variance. *Food microbiology*, 17, 375-382.
- Rivas-Cañedo, A., Juez-Ojeda, C., Núñez, M., & Fernández-García, E. (2011). Volatile compounds in ground beef subjected to high pressure processing: A comparison of dynamic headspace and solid-phase microextraction. *Food Chemistry*, 124, 1201-1207.
- Rivas-Cañedo, A., Núñez, M., & Fernández-García, E. (2009). Volatile compounds in spanish dry-fermented sausage 'salchichón' subjected to high pressure processing. effect of the packaging material. *Meat Science*, 83, 620-626.
- Rodríguez-Rivera, V.M. (2008). *Bases de la alimentación humana*. España: Netbiblo.

- Sánchez-Basurto, B. E. (2012). *Aplicación de altas presiones isoestáticas para la conservación de cortes de carne de vacuno*. (Universidad Nacional Autónoma de México). *Tesis De Doctorado*.
- Sánchez-Basurto, B.E., Ramírez-Gilly, M., Tecante, A., Severiano-Pérez, P., Wachter, C., & Valdivia-López, M.A. (2012). Effect of high hydrostatic pressure treatment of the preservation of beef meat. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51, 5932-5938.
- Sanderson, C., Clark, A., Taylor, D. & Bolanos, B. (2011). Global review of rotavirus morbidity and mortality data by age and region. Recuperado el 03/21, 2013, de [http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2012/april/Sanderson\\_et\\_al\\_SAGE\\_April\\_rotavirus.pdf](http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2012/april/Sanderson_et_al_SAGE_April_rotavirus.pdf)
- Schindler, S., Krings, U., Berger, R. G., & Orlie, V. (2010). Aroma development in high pressure treated beef and chicken meat compared to raw and heat treated. *Meat Science*, 86, 317-323.
- Shigehisa, T., Ohmori, T., Saito, A., Taji, S., & Hayashi, R. (1991). Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat and meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 12, 207-216.
- Simonin, H., Durantou, F., & de Lamballerie-Anton, M. (2012). New insights into the high-pressure processing of meat and meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 285-306.
- Sonnabend, O., Sonnabend, W., Heinzle, R., Sigrist, T., Dirnhofer, R., & Krech, U. (1981). Isolation of clostridium botulinum type G and identification of type G botulinum toxin in humans: Report of five sudden unexpected deaths. *Journal of Infectious Diseases*, 143(1), 22-27.
- Torres, J.A., & Velázquez, G. (2005). Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods. *Journal of Food Engineering*, 67, 95-112.

Totosaus, A. (2006). In Poggi-Varaldo H. M., Bátiz-Solórzano M. E. (Eds.), *Funcionalidad de proteínas musculares. cuaderno de tecnología no. 2* Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.

Trespalacios, P., & Pla, R. (2007). Simultaneous application of transglutaminase and high pressure to improve functional properties of chicken meat gels. *Food Chemistry*, 100, 264-272.

Villamonte, G., Simonin, H., Duranton, F., Chéret, R., & de Lamballerie-Anton, M. (2013). Functionality of pork meat proteins: Impact of sodium chloride and phosphates under high-pressure processing. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, IN PRESS

Wilson, M. J., & Baker, R. (2000). *High temperature/ultra-high pressure sterilization of foods*. Estados Unidos: US Patent 6,086,936.

Yaldagard, M., Mortazavi, S.A., & Tabatabaie, F. (2008). The principles of ultra-high pressure technology and its application in food processing/preservation: A review of microbiological and quality aspects. *African Journal of Biotechnology*, 7(16), 2739-2767.

Zayas, J. F. (1997). *Functionality of proteins in foods*. Alemania: Springer.

Zhu, S., Naim, F., Marcotte, M., Ramaswamy, H., & Shao, Y. (2008). High-pressure destruction kinetics of clostridium sporogenes spores in ground beef at elevated temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 126, 86-92.

## ANEXO

Tabla A. Composición nutricional y energética por 100 g de porciones magras de carne de distintas especies animales (Rodríguez-Rivera, 2008).

	Cerdo Lomo	Cordero Pierna	Vacuno Solomillo	Conejo	Pollo Pechuga	Valor medio
Energía (kcal)	111	187	118	127	96	127.8
Agua (g)	75	67	74	73	76	73
Proteína (g)	20	19	19.3	20.05	21.3	19.9
Grasa total (g)	3.4	12.3	4.5	5.2	1.24	5.33
AGS* (g)	1.2	5.9	2	1.8	0.33	2.25
AGM* (g)	1.3	4.8	1.9	1.4	0.3	1.94
Colesterol (mg)	58	74	67	57	71.9	65.6
Hierro (mg)	1.8	1.4	2.6	1.5	1.5	1.76
Cobre (mg)	0.02	0.08	0.12	0.14	0.041	0.08
Zinc (mg)	1.6	2.8	3.1	1.4	1.4	2.06
Manganeso (mg)	Tr	0.01	0.03	0.03	0.02	0.018
Potasio (mg)	300	320	348	360	255	316.6
Fósforo (mg)	170	190	206	220	196	196.4
Magnesio (mg)	16	22	19.6	24.9	22.4	20.98
Sodio (mg)	70	58	90	67	65	70
Calcio (mg)	9.4	7	9.2	22.8	22.8	14.24
Vit. B1 (mg)	0.79	0.14	0.12	0.1	0.1	0.25
Vit. B2 (mg)	0.2	0.23	0.24	0.12	0.12	0.18
Vit. B6 (mg)	0.39	0.33	0.35	0.35	0.35	0.35
Vit. B12 (mg)	2.1	1	2	11	0.38	3.3
Folato (µg)	3.2	11	8.2	4.8	4.8	6.4
Niacina (mg Eq.)	4.1	5.1	6.8	8.7	8.7	6.68
Pantotenato (mg)	1.53	1.25	1.45	0.8	0.82	1.17
Vit. A (µg Eq.)	Tr	9	Tr	0.34	0.34	1.94
Vit. C (mg)	0	0	0	Tr	Tr	Tr

\*AGM: Ácidos Grasos Monoinsaturados; AGS; Ácidos Grasos Saturados

Tabla B. Composición nutricional y energética por 100 g de porciones comestibles de algunos productos cárnicos (Modificado de Rodríguez-Rivera, 2008).

	Jamón cocido	Jamón serrano	Chorizo	Salchicha tipo Frankfurt	Paté de hígado de cerdo
Energía (kcal)	108	241	318	288	344
Agua (g)	74	53	47	57	52
Proteína (g)	19	31	27	12	10
Grasa total (g)	3	13	23.1	25.4	32.7
AGS (g)	1.1	4.25	9.6	9.2	9.5
AGM (g)	1.4	6.6	11	11.5	3
AGP (g)	0.36	1.55	2.4	3	3
Colesterol (mg)	45	70	60.5	65	101.5
Hierro (mg)	2.1	2.3	2.1	1.8	5.5
Cobre (mg)	0.12	-	-	0.08	0.4
Zinc (mg)	2.8	2.2	1.2	1.4	2.3
Manganeso (mg)	0.01	-	-	0.03	0.12
Potasio (mg)	270	160	210	180	170
Fósforo (mg)	239	180	160	133	220
Magnesio (mg)	17.5	17.1	10.3	9	12
Sodio (mg)	970	1110	1060	780	740
Calcio (mg)	9.6	12.7	18.4	13	23
Vit. B1 (mg)	0.46	0.57	0.33	0.2	0.18
Vit. B2 (mg)	0.18	0.25	0.15	0.2	0.85
Vit. B6 (mg)	0.2	0.41	0.14	0.03	0.35
Vit. B12 (mg)	Tr	Tr	0.9	1	12
Folato (µg)	19	Tr	0.9	1	99
Niacina (mg Eq.)	3.2	6.7	7.4	3	7.1
Pantotenato (mg)	1.03	-	0.9	0.35	2.1
Vit. A (µg Eq.)	Tr	0	Tr	Tr	830
Vit. C (mg)	0	0	0	0	Tr

\*AGM: Ácidos Grasos Monoinsaturados; AGS: Ácidos Grasos Saturados; AGP: Ácidos Grasos Poliinsaturados.

Tabla C. Nivel de reducción de los principales microorganismos patógenos de la carne (Ledward et al., 1995; Rendueles et al., 2011; Bajovic et al., 2012)

Microorganismo	Producto	P (MPa)	t (min)	T (°C)	Nivel de reducción (log <sub>10</sub> )	Fuente (citado por el autor original)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cerdo	300	10	25	6	Shigehisa, Ohmori, Saito, Taji & Hayashi, 1991
	Ave	375	10	25	6	Solomon & Hoover, 2004
<i>Escherichia coli O157:H7</i>	Ave	600	15	20	3	Patterson, Quinn, Simpson & Gilmour, 1995
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ave	600	15	20	3	Patterson et al., 1995
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ave	375	15	20	2	Patterson et al., 1995
		500	1	40	3.8	Chen, 2007
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Cerdo	300	10	25	6	Shigehisa et al., 1991
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Cerdo	300	10	25	6	Shigehisa et al., 1991
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Consomé	345	10	35	8.22	Alpas et al., 2000

Tabla D. Nivel de reducción obtenido en la flora alterante de la carne (Aymerich et al., 2008; Bajovic et al., 2012)

Microorganismo	Producto	P (MPa)	t (min)	T (°C)	Nivel de reducción (log <sub>10</sub> )	Observaciones	Fuente
<i>Pseudomonas florescens</i>	Carne molida de res	200	20	20	> 5 log	-	Carlez et al. (1993)
Microbiota total	Carne molida de res	450	20	20	> 4 log	10 días a 3 °C	Carlez et al. (1994)
Bacterias mesófilas	Ave mecánicamente separada	450	15	2	> 4 log	15 días a 2 °C	Yuste et al. (2001)
Cuenta total aerobia	Lomo marinado de res	600	6	31	> 4.5 log	120 días, 4 °C	Garriga et al. (2004)

Tabla E. Compilación de estudios recientes sobre los efectos de la API en las características de la carne (Bajovic et al., 2012)

Producto	Condiciones de proceso	Efectos principales	Fuente (citado por el autor original)
Pechuga de pollo	300,450 y 600 MPa. 5 min, 15 °C	600 MPa inactivaron <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> y <i>L. monocytogenes</i> por debajo de niveles detectables. El aumento de la presión aumenta la pérdida de humedad por cocción y modifica el color; aumentan los valores de L* a* y b*. El aumento de la presión aumentó la dureza, la cohesividad, la gomosidad y la masticabilidad. La presión a 450 MPa indujo la oxidación de lípidos. Las bases volátiles fueron significativamente reducidas. Un panel sensorial semi-entrenado encontró que la pechuga tratada a 450 MPa presentó la menor fuerza del aroma.	Kruk et al. (2011)
	300 MPa. 5 min, 20 °C en combinación con recubrimiento de antimicrobiano comestible y empaque en atmósferas modificadas (MAP)	La combinación de recubrimiento antimicrobiano y el MAP con la API exhibieron una fuerte interacción sinérgica extendiendo la vida de anaquel hasta 28 días. Los atributos sensoriales, color, terneza y aceptabilidad general se mantuvieron durante el tiempo de almacenamiento.	Rodríguez-Calleja et al. (2012)
	600 MPa. 2 min, 20 °C	El tratamiento por API por sí solo permitió una reducción de 3.3 log de <i>L. monocytogenes</i> en pollo cocido. El Nalactato al 2% + API mantuvieron los niveles de <i>L.m.</i> por debajo de 50 CFU/g durante el almacenamiento.	Patterson et al. (2011)
Pechuga de pavo	50-300 MPa. 0.1 s y 1,2,3,5,10 15 min, 25 °C.	La API pudo ser usada como ayuda de proceso, ya que mejoró el coeficiente de difusión de la sal en pechuga de pavo, el cual tuvo un máximo a 150 MPa. Este tratamiento resultó en pechuga de pavo con mínima dureza, gomosidad y masticabilidad.	Villacís et al. (2008)

Tabla E. (Continuación)

Producto	Condiciones de proceso	Efectos principales	Fuente (citado por el autor original)
Carne de pavo PSE	50,100,150 y 200 MPa. 5 min, 4 °C	El tratamiento por API con 50 y 100 MPa incrementó la CRA de la carne, cercano al nivel de la carne normal. Niveles bajos de presión, 50 y 100 MPa incrementaron la solubilidad de las proteínas de la carne normal y de bajo pH y mostraron una mejor capacidad de gelificación.	Chan et al. (2011)
Res ( <i>M. pectoralis profundus</i> )	200,300 y 400 MPa. 20 min, 20 y 40 ° C.	Los niveles bajos de presión de 200 MPa afectan mínimamente los parámetros de calidad de la carne. Aumentar la presión y la temperatura provocó un aumento de la pérdida de humedad por cocción, oxidación de lípidos y alteró el color. La presión no alteró el cociente AGI/AGS.	McArdle et al. (2010)
Res	500-600 MPa. 20-300 s, 10 °C	El tratamiento por API retrasó 1 semana el crecimiento microbiano (520 MPa, 260 s). La intensidad de la presión fue más significativa que el tiempo de tratamiento en los cambios de color y contenido de metamioglobina. La presión mayor que 300 MPa induce modificaciones en los parámetros de color.	Jung et al. (2003)
Cerdo (pre-rigor)	215 MPa. 15 s, 33 °C	La API inhibió parcialmente el metabolismo post mortem, resultando en una reducción de las pérdidas de humedad por cocción, comparada con la carne no tratada. La API incrementó la oxidación de lípidos ligeramente y causó productos de apariencia más pálida. La terneza fue mejorada. La solubilidad de las proteínas miofibrilares decreció, dando como resultado una pérdida de las propiedades funcionales en productos cárnicos que se procesaron con la carne tratada.	Souza et al. (2011)

Tabla F. Compilación de estudios recientes sobre los efectos de la API en las características de los productos cárnicos (Bajovic et al., 2012)

Producto	Condiciones de proceso	Efectos principales	Fuente (citado por el autor original)
Jamón curado	600 MPa. 6 min, 15 °C.	La API a 600 MPa modificó el color del jamón curado; aumentó el valor de L*. Los atributos sensoriales se modificaron; aumentó la dureza, la gomosidad, el brillo, la intensidad de olor y la percepción de gusto salado. Se registró un contenido mayor de nitritos para las muestras presurizadas durante el almacenamiento en la luz, lo que indica un bajo efecto de la luz como pro-oxidante durante 50 días de almacenamiento refrigerado.	Clariana et al. (2011)
Jamón cocido	400 MPa. 10 min, 17 °C, combinación con películas de alginato con antimicrobianos.	El uso de API resultó en la reducción de 3.4 unidades logarítmicas de <i>L. monocytogenes</i> . La combinación de las películas antimicrobianas con API logró una vida útil de 60 días.	Marcos et al. (2008)
Salchichas fermentadas (baja acidez)	400 MPa. 10 min, 17 °C	El tratamiento con API después de la fermentación y el secado resultó en menores cambios en el color para el chorizo evaluado por un panel sensorial. No hubo diferencia significativa en la oxidación de lípidos. Se incrementó la cohesividad, la masticabilidad y la elasticidad para las muestras presurizadas.	Marcos et al (2007)
Salchichas de cerdo con fibra de zanahoria	500 y 600 MPa. 1 s, 3,6 y 9 min, 40, 50 y 60 °C	La adición de fibra de zanahoria mejoró la fuerza de la emulsión y la firmeza de las salchichas de cerdo tratadas con API. Se reportó un aumento en L* y un decremento en a* con el aumento de la presión y de la temperatura.	Grossi et l. (2011)
Jamón cocido	100-700 MPa. 10 min a 5-40 °C, con y sin adición de ácido caprílico y diacetato-lactato	Se logró reducir 5 log en el MAP en condiciones iguales o mayores que 600 MPa y 25 °C. El tratamiento por API retrasó el crecimiento microbiano por 59 días, y en combinación con antimicrobianos se extendió hasta 84 días. El tratamiento por API tuvo mínimo efecto sobre las propiedades sensoriales evaluadas, pero sí aumentó la pérdida de agua durante el almacenamiento. Se detectó una influencia negativa en el sabor producida por los antimicrobianos.	Vercammen et al. (2011)

Tabla F. (Continuación)

Producto	Condiciones de proceso	Efectos principales	Fuente (citado por el autor original)
Jamón cocido	400 MPa o 600 MPa. 10 min, 22 °C	La API inhibió las poblaciones de bacterias en jamón cocido empacado al vacío durante un tiempo de almacenamiento de 90 días. <i>Weisella viridescens</i> y <i>Leuconostoc menesteroides</i> sobrevivieron al tratamiento y fueron responsables del deterioro final.	Han et al. (2011)
Jamón curado	600 MPa. 5 min, 15 °C con adición de nisina	Dependiendo del tipo de jamón curado se logró inactivar en 1.82-4.85 unidades log <i>L. monocytogenes</i> por API. <i>L.m.</i> fue más resistente al tratamiento por API con baja $a_w$ . La nisina actuó de manera sinérgica con la API para lograr la inactivación.	Hereu et al. (2011)
Carne de res marinada, jamón cocido y jamón curado	600 MPa. 6 min, 31 °C.	El tratamiento por API a 600 MPa inactivó de modo efectivo a <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Y. enterocolitica</i> y <i>Debaryomyces hansenii</i> . Durante el almacenamiento a 4 °C, la mayoría de los microorganismos se mantuvieron en niveles menores que los detectables por 120 días.	Jofré et l. (2009)
Salami Genoa y mejilla de cerdo	483 y 600 MPa. 0.5-5 min o 1-12 min, 4.4-35 °C	La API inactivó larvas de <i>T. spiralis</i> tanto a 483 como a 600 MPa en la mejilla infectada de cerdo. La API fue efectiva en el control de <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> O:157 H7 y <i>Salmonella spp.</i> En combinación con la fermentación y el secado en el salami Genoa, con una reducción de 5 log	Porto-Fett et al. (2010)

Tabla G. Ejemplos de productos pasteurizados mediante API en el mercado, condiciones de proceso y resultados (Campus, 2010).

País	Producto	Condiciones de proceso	Empaque	Vida de anaquel	Comentarios
España (1998)	Jamón cocido rebanado y "tapas" de cerdo y pollo	400 MPa, 10 min, 8 °C	vacío y MAP*	2 meses	Pasteurización con mínimas implicaciones en el color y el sabor.
EE.UU. (2001)	Jamón cocido rebanado, productos cárnicos de cerdo y jamón Parma	240 MPa, 90 s	vacío	-	Pasteurización con mínimas implicaciones en el color y el sabor. Destrucción de <i>Listeria monocytogenes</i> .
España (2002)	Jamón rebanado, productos cárnicos de pollo y pavo, jamón serrano y chorizo	500 MPa, 4-10 min, 8 °C	No	2 meses para los productos cocidos	Pasteurización con mínimas implicaciones en el color y el sabor. Destrucción de <i>Listeria monocytogenes</i> . Reducción de aditivos.
Japón (2005)	Jamón, salchichas, tocino libres de nitritos	-	vacío	4 semanas	Aumento de la vida de anaquel. Pasteurización.
EE. UU. (2002)	"Fajitas" de res y pollo	-	MAP*	21 días	Pasteurización con mínimas implicaciones en el color y el sabor. Destrucción de <i>Listeria monocytogenes</i> .

\*MAP : Empacado en atmósferas modificadas