



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“Desarrollo de un envase activo antimicrobiano con
aceite de romero para la conservación de lomo de
cerdo a 0 °C”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERO EN ALIMENTOS**

PRESENTA

TANIA HERRERA SERNA

ASESORES:

DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA

DRA. SUSANA ELISA MENDOZA ELVIRA

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2019



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARIA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Desarrollo de un envase activo antimicrobiano con aceite de romero para la conservación de lomo de cerdo a 0°C.

Que presenta la pasante: **Tania Herrera Serna**

Con número de cuenta: **414043767** para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 05 de Noviembre de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.A. Alfredo Álvarez Cárdenas	
VOCAL	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
SECRETARIO	Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza	
1er. SUPLENTE	Dra. María Eugenia Ramírez Ortiz	
2do. SUPLENTE	Q.F.B: Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

AGRADECIMIENTOS

- Al proyecto PAPIIT IT201617, “Efecto de recubrimientos nanopartículados y tratamiento con luz UV-C sobre la actividad antioxidante, enzimática e integridad de frutas y hortalizas cortadas” de la Dirección General de Asuntos de Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA-UNAM), por el financiamiento para la realización de este trabajo
- Al proyecto PIAPI1801 “Evaluación y diseño de sistemas nanopartículados para la conservación refrigerada y/o congelada de productos de origen vegetal. Proyecto interno de FES-Cuautitlán-UNAM, por el apoyo en la adquisición de reactivos para el desarrollo de este trabajo.
- A la empresa Sealed Air de México Operations S. de R. L. de C. V. por el material donado para realizar esta experimentación.
- Tania Herrera Serna, agradece el apoyo técnico para la realización de pruebas colorimétricas y texturales de la Dra. María de los Ángeles Cornejo Villegas, en el Laboratorio de Transformación y Tecnologías Emergentes de Alimentos de la UIM.

LUGAR DE REALIZACIÓN

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de virología, Edificio de Posgrado Campo I y en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Laboratorio de Transformación y Tecnologías Emergentes de Alimentos L-16, Campo IV FES-Cuautitlán-UNAM.

DEDICATORIAS

Una vez leí *“En un mundo de Kardashians, sea una Curie”*. Quiero dedicar este trabajo a las Curie de mi vida, quienes me han servido de inspiración a lo largo de mi vida: mi madre Margarita Serna, Dea Herrera, Claudia Serna, Gabriela Serna, María de la Luz Zambrano Zaragoza y Lourdes Quiroz.

Gracias a Dios, a Buda, a Alá, a Ganesha, al universo, al destino... gracias a todo lo que me permitió llegar a este punto, a la culminación de mi logro más grande, terminar la universidad y por fin poderme llamar Ingeniero.

A mis padres: Margarita y Homero, que sin ellos esto jamás habría sido posible. Gracias por hacer de mí una persona de bien; gracias por la vida que me han dado, he aprendido tanto de ustedes, los amo con el alma.

A mi hermano Pablo, por entenderme y por todas esas historias que hemos recabado a lo largo de todos estos años. Gracias por todo hermano, eres también una inspiración, gracias por seguir tus sueños y tu luz, tu camino ilumina el de las demás personas, te amo.

A los profesores que han marcado mi camino, que no sólo me enseñaron a ser una buena estudiante para convertirme en una profesionista, sino también me enseñaron a ser un ser humano: Lucila Celene Ramírez Juárez, Cristina Canela Obregón, Cristhian Sabdiel Cohen Ruíz, David Arneith Cohen Ruíz, Saturnino Maya Ramírez, Francisco Javier López Martínez, Laura Margarita Cortázar Figueroa, José Jaime Flores Minutti, Víctor Manuel Ávalos Ávila, Manuel Alarcón López y María de la Luz Zambrano Zaragoza. Gracias por ser una inspiración, gracias por su pasión.

A la Dra. María de la Luz Zambrano, por ser una increíble mujer, inspiradora en todos los sentidos, por haberme dado la oportunidad de trabajar en su laboratorio y dar rienda suelta a este proyecto, por su apoyo, por su paciencia. Gracias, la admiro mucho. De igual manera quiero incluir a las personas que me acompañaron en el laboratorio L-16 en el casi año que pasé ahí, especialmente a Liliana Sánchez, gracias por todas esas pláticas tan amenas, pero sobre todo, por tu guía, ayuda y consejos.

A la Dra. Susana Mendoza, por abrirme las puertas de su laboratorio y su apoyo a esta investigación, a Viviana Sandoval Villarauz, gracias por tu apoyo incondicional en este proyecto, y Claudia Sahori Moreno Kato, gracias por compartir sus conocimientos.

A mis amigos, que en realidad son la familia que la universidad me regaló, hicieron de mí una mejor persona, aprendí mucho de ustedes y me regalaron demasiadas risas: César, Claudia, Cristina Pacheco, Dafne, Davido, David Eduardo, Diego, Ingrid y Luis. Y por supuesto mis niñas que, aunque ya estaban completas, me aceptaron para formar el último enlace; Anita, Elizabeth, Laurita y Victoria, ¡somos enlaces covalentes! A todos ustedes los quiero con el alma. Gracias a todos por las risas, las bromas, por ser, coincidir y existir.

A mis sinodales, el profesor Alfredo Álvarez, la maestra Tais Nopal, la Dra. Luz Zambrano, la Dra. María Eugenia y el maestro Jonathan Paredes, por su gran apoyo a la culminación de este proyecto. Gracias también por su paciencia y correcciones para mejorar este trabajo.

A todas las personas que conocí en Yeungnam University, por hacerme sentir bienvenida en cada rincón del mundo y toda la ayuda desinteresada que recibí. Gracias por ser la mejor experiencia de mi vida hasta el momento y darme una familia internacional, un miembro en cada rincón del mundo. Sólo me queda decir de corazón: 감사합니다

A mi UNAM, por ser lo mejor que me ha pasado, la mayor experiencia de mi vida, por darme una carrera universitaria, los mejores años, increíbles amigos que en realidad son una familia, por permitirme vivir el sueño de mi vida, y por darme un sentido de identidad y pertenencia único.

Por mi raza hablará el espíritu

ÍNDICE

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I: ANTECEDENTES	1
1.1 Generalidades de la carne de cerdo	1
1.1.1. Definición	1
1.1.2. Producción y comercialización de la carne de cerdo	1
1.1.3. Tipos de cortes	2
1.1.4. Composición del lomo de cerdo	4
1.1.5. Reacciones de descomposición en el lomo de cerdo	7
1.1.6. Parámetros de calidad de la carne de cerdo	7
1.1.7. Microorganismos de importancia en la carne de cerdo	13
1.1.8. Conservación en refrigeración de la carne	15
1.2. Envasado de alimentos	16
1.2.1. Envasado al vacío	16
1.2.2. Envases activos	17
1.2.3. Clasificación de los envases activos	20
1.2.4. Aplicación de envases activos antimicrobianos	22
1.3. Nanotecnología	23
1.3.1. Nanocápsulas	25
1.3.2. Métodos de preparación de nanocápsulas	25
1.3.3. Aceites esenciales para encapsulación	27
CAPÍTULO II: METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL	30
2.1 Problema	30
2.2 Objetivos	30
2.3 Selección de variables	31
2.4 Diseño de experimentos	32
2.5 Actividades preliminares	33
2.5.1 Acondicionamiento de la cámara de refrigeración	33
2.5.2. Determinación microorganismo a inhibir, concentración del microorganismo a inocular y selección de antimicrobiano	34
2.5.3. Preparación de nanocápsulas por emulsificación-evaporación	35

2.5.4. Evaluación de tamaño de partícula e índice de polidispersión de nanocápsulas	35
2.5.5. Selección de materia prima	35
2.5.6. Preparación de muestras (inoculación)	36
2.5.7. Aspersión de nanocápsulas en la superficie del envase	36
2.5.8. Curva de crecimiento de E. coli	37
2.5.9. Envasado de muestras	38
2.6. Actividades experimentales	39
2.6.1. Concentración de Oxígeno y Dióxido de carbono en el espacio libre de cabeza	39
2.6.2. Evaluación de líquido drenado	39
2.6.3. Evaluación de pérdida de peso	40
2.6.4. Color	40
2.6.5. pH	41
2.6.6. Porcentaje de ácido láctico	42
2.6.7. Capacidad de retención de agua	43
2.6.8. Análisis de Perfil de Textura	44
2.6.9. Firmeza	45
2.6.10. Análisis microbiológico: coliformes totales	45
CAPÍTULO III. TRATAMIENTO Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	47
3.1. Actividades preliminares	47
3.1.1. Acondicionamiento de la cámara de refrigeración	47
3.1.2. Determinación microorganismo, concentración del microorganismo a inocular y selección de antimicrobiano	47
3.1.3. Curva de crecimiento de E. coli	48
3.2. Actividades experimentales	51
3.2.1. Concentración de Oxígeno y Dióxido de carbono en el espacio libre de cabeza	51
3.2.2. Líquido drenado	54
3.2.3. Porcentaje de pérdida de peso	55
3.2.4. Color	57
3.2.5. pH	64
3.2.6. Porcentaje de ácido láctico	66
3.2.7. Capacidad de retención de agua	68
3.2.8. Análisis de perfil de textura	69
3.2.9. <i>Firmeza</i>	72
3.2.10. Análisis microbiológico: coliformes totales	74
CONCLUSIONES	77
REFERENCIAS	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Nombre	Página
1	Clasificación de cortes de canal de cerdo	3
2	Composición química del lomo de cerdo	4
3	Principales factores de deterioro de alimentos y la solución a estos	20
4	Ejemplos de sistemas de absorción en envases activos	21
5	Ejemplos de sistemas de emisión en envases activos	22
6	Composición del aceite esencial de romero <i>R. officinalis</i>	28
7	Factores y niveles de variación en el diseño experimental.	32
8	Tratamientos aplicados al envase activo	33
9	Características generales del material de envasado	39
10	Unidades formadoras de colonias registradas en el lomo de cerdo con respecto al tiempo	49
11	Resultados de pruebas microbiológicas: coliformes totales. Técnica del número más probable	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Nombre	Página
1	Esquema de cortes de la canal de cerdo	3
2	Esquema de la composición muscular	6
3	Reducción y oxidación de la mioglobina en la carne	11
4	Envasado al vacío	17
5	Interacción entre producto-polímero-ambiente en un envase activo	19
6	Ubicación de termohigrómetros en la cámara de refrigeración	34
7	Aspersión de nanocápsulas en la superficie del envase	37
8	Pruebas al envase sellado	40
9	Medición de color empleando el colorímetro	41
10	Medición de pH	42
11	Titulación de muestras para determinar porcentaje de ácido láctico	43
12	Pruebas de textura	44
13	Prueba presuntiva en caldo lactosado de coliformes totales	45
14	Prueba confirmativa caldo lauril sulfato sodio de coliformes totales	46
15	Cambios de temperatura y humedad relativa en la cámara de refrigeración	48
16	Curva de crecimiento de <i>E. coli</i> en carne fresca y carne en contacto con un envase activo.	50
17	Concentración de oxígeno en el espacio de cabeza	52
18	Producción de dióxido de carbono en el espacio de cabeza	54
19	Líquido drenado del lomo de cerdo envasado	56
20	Determinación de la pérdida de peso durante el almacenamiento del lomo de cerdo	57
21	Luminosidad de los distintos tratamientos del lomo de cerdo envasado	60
22	Diagrama de Pareto para Luminosidad	61
23	Cromaticidad de los diferentes tratamientos del lomo de cerdo envasado	62
24	Ángulo de tono en los diferentes tratamientos en el lomo de cerdo envasado	64

25	Cambios de pH durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado	66
26	Diagrama de Pareto para el pH	67
27	Cambios en el porcentaje de ácido láctico presente durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado	68
28	Cambios en la capacidad de retención de agua durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado	70
29	Cambios en la dureza correspondiente al primer ciclo en el APT durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado	72
30	Cambios en la dureza correspondiente al segundo ciclo en el APT durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado	73
31	Cambios en la firmeza durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado	75

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un envase activo antimicrobiano con aceite de romero que contribuirá a disminuir el crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* y a su vez contribuir a mantener las propiedades del producto fresco por más tiempo, en este proyecto se trabajó con lomo de cerdo. Para determinar la efectividad del envase se midió concentración de oxígeno y producción de dióxido de carbono en el espacio de cabeza del envase, líquido drenado, pérdida de peso, color, dureza, firmeza, capacidad de retención de agua, pH, acidez y pruebas microbiológicas (coliformes totales) del lomo de cerdo. Los tratamientos analizados fueron: control, 2 mL de aceite de romero en nanocápsulas - vacío a 260 mbar, 1.8×10^3 UFC/mL - vacío a 260 mbar, 2 mL de aceite de romero en nanocápsulas – 1.8×10^3 UFC/mL y 1 mL de aceite de romero en nanocápsulas – 0.9×10^3 UFC/mL – 510 mbar. Se demostró que el recubrimiento con aceite de romero contribuye a disminuir el crecimiento microbiano de *E. coli* en el lomo de cerdo envasado a vacío y a mantener por más tiempo las características fisicoquímicas y texturales del producto, en comparación con las muestras control y aquellas sin vacío.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas la comercialización de carne de cerdo ha ido en aumento, siendo actualmente la carne roja la de mayor consumo mundial, debido a que resulta una fuente de proteínas y nutrientes de precio accesible para la población. En los últimos años, México ha aumentado su producción para satisfacer la demanda nacional y se ha posicionado como uno de los primeros diez productores de carne de cerdo a nivel mundial (FIRA, 2017), también se ha abierto las puertas en el mercado internacional, siendo Estados Unidos de América y China a quienes ha exportado mayormente en los últimos dos años.

El envasado de carne fresca se lleva a cabo para evitar la contaminación, retrasar el deterioro, permitir actividad enzimática que mejore la textura, reduzca la pérdida de peso y conservación de color, dado que es el principal factor de calidad para el cliente (Brody, 1997). Debido a la creciente demanda en las regulaciones de higiene y seguridad asociadas con productos cárnicos frescos y procesados aunado a las demandas de productores sobre extensiones rentables de vida útil del producto además de cumplir con las expectativas del consumidor en relación a la conveniencia y calidad del producto, la industria del envasado de alimentos ha desarrollado rápidamente la tecnología para cubrir estas demandas (Kerry *et al.*, 2006).

Con el propósito de preservar la carne fresca y además aumentar su vida de anaquel debe cumplir con ciertas características físicas, químicas y organolépticas ya establecidas por estándares de calidad; y muy importante, retrasar la aparición de deterioro microbiano.

Por mucho tiempo el envasado a vacío de la carne había sido por excelencia el método de envasado más empleado, debido a que provee de un ambiente anaeróbico al producto y retarda reacciones de oxidación desfavorables para la vida de anaquel del producto (Sahoo & Kumar, 2005), sin embargo, en las últimas décadas ha habido un incremento en la demanda de productos de mayor calidad, inocuos y que perduren más garantizando la calidad de este durante el almacenamiento refrigerado.

En la carne, la contaminación microbiana ocurre por lo general en la superficie de la misma, la mayoría de las veces por un mal manejo durante el proceso de obtención y manipulación; el envasado antimicrobiano surge como una alternativa prometedora para este tipo de productos, con el objetivo de mejorar la seguridad del alimento y retrasar el deterioro por presencia de microorganismos (Quintavalla & Vicini, 2002).

El uso de películas que contengan agentes antimicrobianos es más eficiente sobre envases, ya que sugiere la posibilidad de ser una defensa contra los microorganismos contaminadores, permitiendo la liberación prolongada del agente por un periodo determinado, aumentando el tiempo de protección hacia el producto.

Para extender el periodo de conservación en refrigeración de la carne fresca se han utilizado diversos aditivos sintéticos, sin embargo, en los últimos años las tendencias de consumo van hacia productos más naturales, aceptando los aditivos de origen natural, los cuales deberán mejorar y/o preservar la calidad de la carne sin dejar residuos o causar algún impacto al medio ambiente (Simitzis *et al.*, 2008).

Los aceites esenciales son compuestos aromáticos volátiles obtenidos de plantas, flores, raíces, cortezas, etc., que han surgido como una excelente alternativa, dadas sus propiedades antimicrobianas (Jayasena *et al.*, 2013). Skandamis *et al.* (2012) han reportado que los aceites esenciales de orégano, clavo, romero, timo y salvia tienen una alta actividad inhibitoria contra bacterias gram positivas (Marino *et al.*, 2001).

El aceite esencial de romero aún sigue en estudio en aplicaciones para la industria de los alimentos como agente antimicrobiano.

Bozin et al., (2007) encontraron que el aceite esencial de romero presenta una importante actividad antibacteriana contra cepas de *E. coli*, *S. typhi*, *S. enteritidis* y *S. sonnei*, además de poseer una notable actividad antifúngica contra *Candida albicans*, *Trichophyton tonsurans* y *Trychophyton rubrum*.

Sirocchi et al. (2013) investigaron el efecto del aceite esencial de romero en la carne de aves de corral contra la proliferación de bacterias responsables de la formación de aminas biogénicas, y el efecto del mismo aceite en extensión de la vida útil de la carne, así como la preservación de sus nutrientes.

Actualmente el aceite de romero se emplea en la industria farmacéutica y lentamente va ganando espacio en la industria de los alimentos como antimicrobiano.

CAPÍTULO I: ANTECEDENTES

1.1 Generalidades de la carne de cerdo

1.1.1. Definición

La carne se define como la estructura compuesta por fibra muscular estriada, acompañada o no de tejido conjuntivo elástico, grasa, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos, de las especies animales autorizadas para consumo humano (NOM-009-ZOO-1994).

En el Codex Alimentarius, es definida en función a “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destina para este fin”. La carne se compone de agua, proteínas, minerales, ácidos grasos vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos (FAO, 2007).

1.1.2. Producción y comercialización de la carne de cerdo

La producción mundial de carne de cerdo ha ido en aumento durante la última década, esto se atribuye en parte al precio accesible de la carne de cerdo en comparación con la carne de bovino y al aumento de la confianza del consumidor hacia ésta como una fuente de proteína animal (FIRA, 2017)

Datos de la Agencia de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), organismo adscrito a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), indican que los principales estados productores de carne de cerdo en el 2016 fueron Jalisco con 265 mil, Sonora con 234 mil, Puebla con 166 mil, Yucatán con 135 mil, Veracruz con 122 mil y Guanajuato con 110 mil toneladas. El organismo también registra que el inventario nacional es de más de 1.7 millones de cabezas de ganado porcino y el consumo per cápita es de 16.3 kg (SAGARPA, 2017).

SAGARPA registró que en el 2016 se realizaron ventas al exterior de carne de cerdo por un volumen de más de 432 mil toneladas con países del continente asiático como destino principal, destacando Japón, Corea del Sur y China. Diversos factores favorecen las exportaciones de carne de cerdo del país, entre las que se pueden mencionar las estrictas medidas de bioseguridad y las mejoras aplicadas en las instalaciones de procesamiento, esto para asegurar un producto de calidad tanto para el mercado interno como externo.

1.1.3. Tipos de cortes

Los cortes provenientes de la canal de cerdo se dividen en tres categorías: primarios, secundarios y terciarios (Tabla 1). En la Figura 1 se esquematiza la canal del cerdo y los cortes que se obtienen de la misma (Rebollar-Rebollar *et al.*, 2014). Los cortes más populares entre la población mexicana son: lomo, pierna y costilla. El corte de lomo de cerdo corresponde al músculo *Longissimus lumborum* y *toraxis*. Se ubica en la columna vertebral del animal, desde la articulación de la última vértebra lumbar y la cadera, hasta la cuarta costilla aproximadamente. No debe contener hueso, parte de otros cortes y el cordón de lomo debe retirarse. En ambos extremos debe presentarse un corte recto. En la Figura 1 se puede observar el lomo de cerdo representado en la canal con el número 2.

Tabla 1 Clasificación de cortes de canal de cerdo (Rebollar-Rebollar et al., 2014)

Concepto	Corte
Cortes primarios	Pierna Espaldilla Lomo Costilla
Cortes secundarios	Codillo Espinazo
Cortes terciarios	Cabeza Patas Cuero

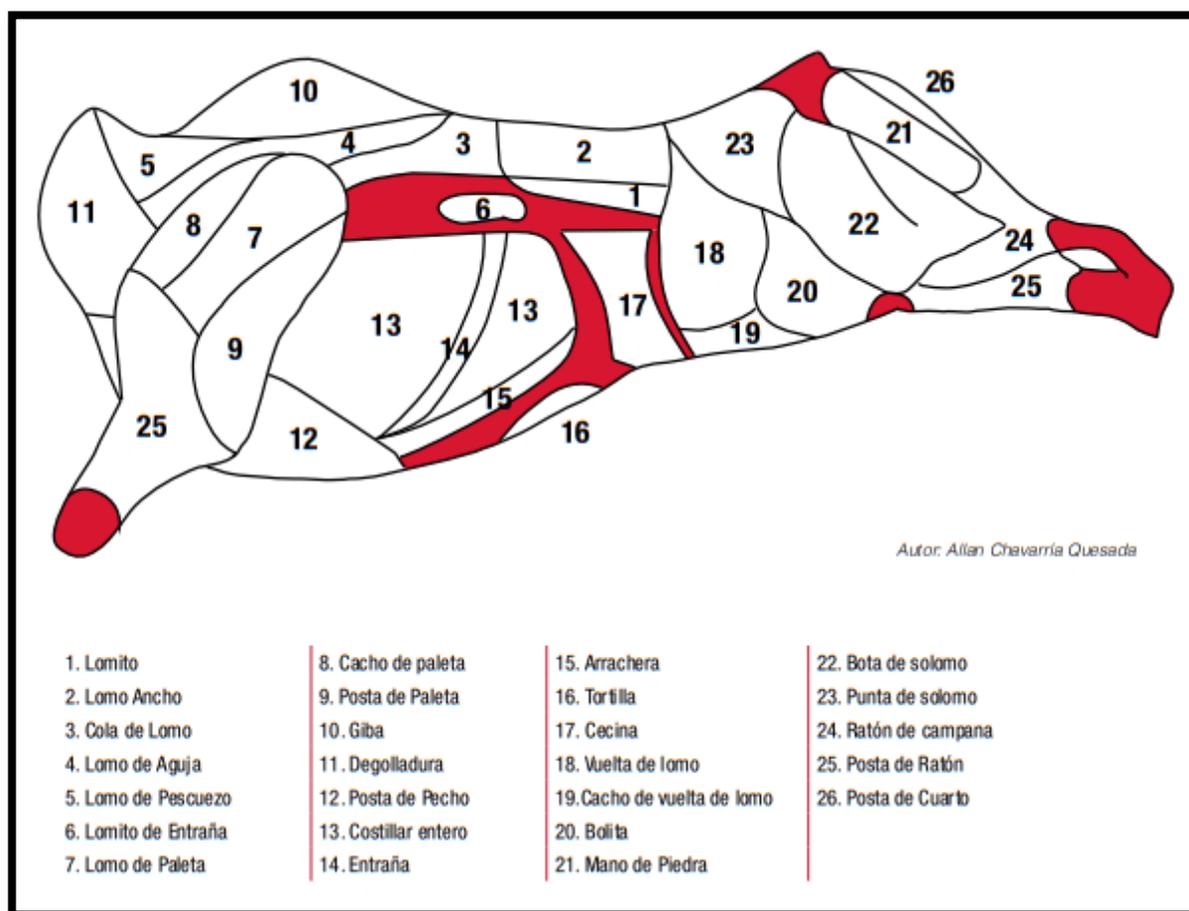


Figura 1. Esquema de cortes de la canal de cerdo (Chavarría-Quesada, A. 2015).

1.1.4. Composición del lomo de cerdo

a) Composición química

La carne de cerdo es de similar calidad nutricional que el resto de las carnes. La cantidad de proteínas contenidas varía entre 18 a 20 g por 100 g de carne, siendo esta variación debida a la especie, la edad y el tipo de corte. Las proteínas presentes en la carne de cerdo contienen todos los aminoácidos indispensables para la vida (Lara *et al.*, 2012).

El contenido de grasa es variable dependiendo de la especie, raza, sexo, edad, tipo de corte y alimentación que haya tenido el animal. El 70 % de la grasa del cerdo se encuentra por debajo de la piel, por lo que puede ser eliminada fácilmente. Posee una mayor proporción en ácidos grasos monoinsaturados a comparación del resto de las carnes, lo que hace que ésta sea más blanda en comparación con las grasas provenientes de otros animales terrestres. La cantidad de colesterol presente en la carne de cerdo varía entre 50 y 80 mg por 100g. Las grasas aportan características sensoriales deseables, como lo son el sabor y textura. La carne de cerdo además posee un elevado contenido de minerales como hierro, fósforo y zinc; también aporta una amplia variedad de vitaminas del complejo B: tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B6 y B12 (Lara *et al.*, 2012). De acuerdo con Rodríguez (2008) en la Tabla 2 se observa la composición química aproximada del lomo de cerdo.

Tabla 2: *Composición química del lomo de cerdo (Rodríguez, 2008).*

	%
Agua	75
Proteínas	20
Lípidos	3.4
Carbohidratos	1.6

b) Composición del músculo, fibras contráctiles y fenómenos de la contracción muscular.

La carne está compuesta por tres tejidos: muscular, conjuntivo y graso. El tejido más abundante es el muscular, el cual está conformado por conjuntos de fibras musculares. Estas fibras musculares son células elongadas que contiene muchas fibrillas proteicas, mejor conocidas como miofibrillas, entrelazadas entre sí, como ejemplo encontramos filamentos de actina, miosina, titina, miomesina, titina, troponina y de tropomiosina, entre otras.

La actina y miosina principalmente son las responsables de la contracción de los músculos, por lo que reciben el nombre de proteínas contráctiles. Los filamentos de tropomiosina se encargan de que la miosina no interaccione con otras proteínas celulares cuando no hay contracción muscular. La troponina se encarga del mantenimiento de los filamentos de tropomiosina y la organización de los demás filamentos proteicos. Por otro lado, la titina es una proteína estructural abundante y elástica, gracias a esta propiedad permite la rápida recuperación de la fibra muscular durante la relajación de los músculos. Todas estas proteínas conforman lo que se llama un “sarcómero” el cual es considerado la unidad funcional del tejido muscular, esto quiere decir que en el sarcómero se encuentran todas las estructuras proteicas necesarias para llevar a cabo la contracción de la fibra muscular. En la Figura 2 se muestra un diagrama de la composición del músculo.

Las fibras musculares se unen entre sí mediante el tejido conjuntivo, que formando un tendón une a su vez el músculo con el hueso. Por último, asociado al tejido conjuntivo que se encuentra entre los haces de fibras, se encuentra el tejido graso, conformado por células de grasa que sirven como fuente de energía para las fibras musculares. Las cualidades de la carne como textura, color y sabor (de las cuales se hablará con mayor detenimiento en el apartado 1.1.6.) dependen en gran medida de la distribución y proporción relativa de estos tejidos (Cheftel, 1992).

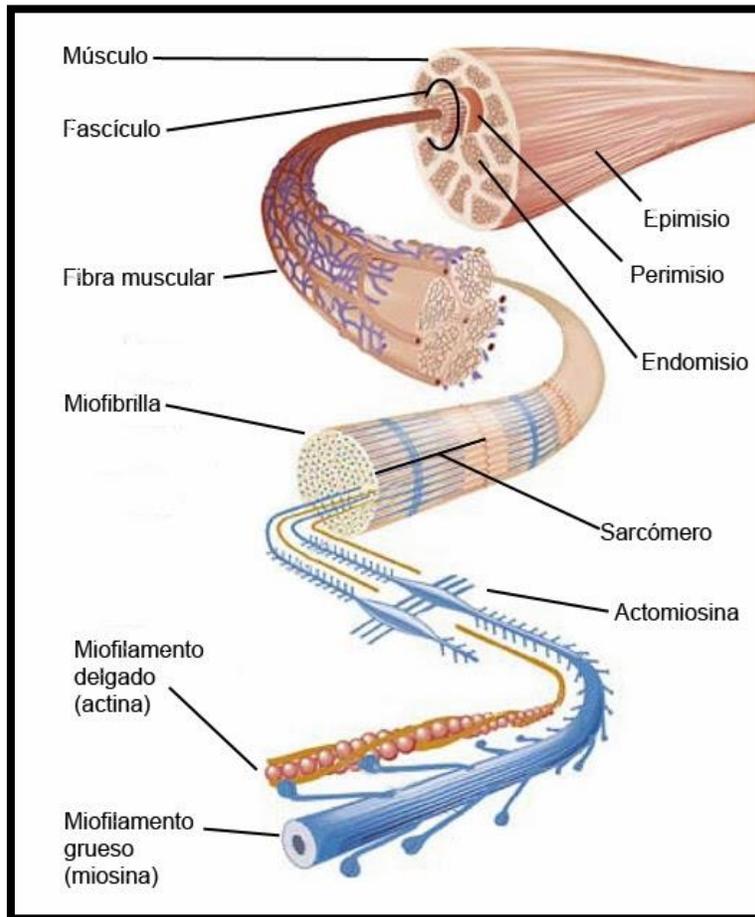


Figura 2 Esquema de la composición muscular (Verger, 2015).

El ablandamiento de la carne se debe principalmente a la proteólisis que sucede en la fase post mortem de la conversión del músculo a carne (posteriormente en el apartado 1.1.6. se explicará con más detalle este proceso). Numerosas enzimas proteolíticas se encuentran en el músculo esquelético; sin embargo las proteasas dependientes del Calcio y ciertas catepsinas han demostrado degradar las proteínas miofibrilares, y solamente se activan durante la autólisis (Huff-Lonergan *et al.*, 2010). Las calpaínas son sistemas de varias proteasas, las cuales dos de ellas, μ - y m-calpaína están involucradas en la degradación proteolítica de las proteínas miofibrilares (Pomponio *et al.*, 2008). Las catepsinas son peptidasas lisosomales

que se ha demostrado están implicadas en el proceso de ablandamiento de la carne, esto sucede después de la alteración de las membranas de lisosomas debido a la acumulación de ácido láctico (Ertbjerg et al., 1999).

1.1.5. Reacciones de descomposición en el lomo de cerdo

Como cualquier otro producto perecedero, la carne se deteriora durante el almacenamiento; la vida de anaquel de la carne depende principalmente de las condiciones de manejo y de la temperatura de almacén, una carne expuesta a temperaturas de almacén fuera de los límites recomendados (0 - 4 °C) en la cadena de frío tendrá una vida de anaquel limitada, debido principalmente al desarrollo de microorganismos. Las principales limitantes en la pérdida de frescura se deben a la contaminación por un manejo inadecuado durante toda la cadena de producción y distribución.

Al ser un alimento con alto contenido de agua y proteínas, la carne provee el sustrato ideal para el desarrollo de bacterias, hongos y levaduras. La velocidad de reproducción incrementa con el aumento de la temperatura y la humedad. El desarrollo de la flora microbiana genera olores desagradables, cambios en el sabor y la formación de una biopelícula superficial. Otros factores asociados a la pérdida de frescura incluyen la oxidación de lípidos, cambios de color y pérdida de firmeza (Alquicira *et al.*, 2013).

1.1.6. Parámetros de calidad de la carne de cerdo

La calidad de la carne de cerdo está definida, por dos atributos esenciales: la calidad nutricional, es decir, su composición química y la calidad sensorial, refiriéndose a los atributos de textura, color, sabor, entre otros (Lara *et al.*, 2012). La calidad se define generalmente en función de su composición y de factores de palatabilidad

como lo son aspecto, olor, firmeza, jugosidad, ternura y sabor. La calidad nutritiva de la carne es objetiva, mientras que la calidad como producto comestible, es subjetiva ya que muchas veces depende de cómo es percibida por el consumidor (FAO, 2018).

a) pH

El pH es definido como el logaritmo negativo de la concentración de protones. Tiene una escala entre 0 y 14, un valor por debajo de 7 se considera ácido y un valor por encima de 7 se denomina alcalino o también conocido como básico (Velázquez *et al.*, 1982)

El pH es uno de los principales parámetros a considerar para determinar la calidad en la carne, ya que afecta varias de sus cualidades como el color, capacidad de retención de agua, firmeza, etc.

En *post-mortem*, el pH depende de la cantidad de glucógeno, ya que éste pasará a glucosa y por vía anaerobia a ácido láctico. Cuanto más se aproxime el pH al punto isoelectrico de las proteínas de la carne (generalmente tiene un valor de 5.5 en la carne de cerdo), menor será la capacidad de retención de agua de la carne. En condiciones normales, el pH siempre será superior al punto isoelectrico. Al aumentar el ácido láctico en el músculo, el pH se aproximará al punto isoelectrico y si el pH es igual a éste, no hay repulsión entre las cargas de las proteínas de la carne porque interactúan entre sí. Cuando hay poco ácido láctico, el pH es mayor que el punto isoelectrico y a consecuencia de esto las proteínas tienen carga negativa, por lo que hay repulsión entre las proteínas y el músculo estará más expandido, aumentando así su capacidad de retención de agua (Zimerman *et al.*, 2008).

La variación en los valores de pH se da por diversos factores, algunos de estos son intrínsecos al animal (genética, metabolismo, susceptibilidad al estrés, tiempo transcurrido desde el sacrificio, etc.), pero normalmente los factores más relevantes tienen que ver con el ambiente en el que se manejó el animal y su canal durante las

24 h previas y posteriores al sacrificio. El manejo previo al sacrificio es un factor clave, ya que un exceso de estrés provocará la sobreproducción de adrenalina, que tiene a promover la degradación de glucógeno y, por ende, favorece la caída abrupta del pH. Dependiendo de la velocidad de la disminución del pH *post-mortem* y del pH final alcanzado por la carne se ha clasificado en dos tipos (Braña Varela *et al.*, 2011)

Tipo I: Carne oscura, firme y seca, DFD por sus siglas en inglés, (*Dark, Firm and Dry*)

En músculos donde el pH tiene una disminución lenta, la carne se torna oscura, dura y seca (DFD). Los principales problemas con una carne DFD son su alto pH, el cual llega a ser mayor a 6 y el color oscuro que presentan, razón por la cual presentan rechazo por parte del consumidor.

La lenta disminución de pH posterior al sacrificio, es ocasionada cuando las reservas de glucógeno en el animal son escasas, esto debido a un estrés prolongado antes del sacrificio debido posiblemente a un transporte largo y tiempos de ayuno muy prolongados, temperaturas ambientales frías y malos manejos; todo esto tiende a reducir las reservas musculares de glucógeno, por lo que presentará un menor contenido de ácido láctico en el músculo, ocasionando de esta manera un pH final elevado a las 24 h *post-mortem* (6.0 – 6.8), en comparación con el pH de una carne normal (5.4 - 5.9) (Braña Varela *et al.*, 2011).

Tipo II: Carne Pálida Suave y exudativa, PSE por sus siglas en inglés (*Pale, Soft, Exudative*)

Con este tipo de carne sucede lo contrario a la DFD, aquí ocurre una acelerada disminución del pH *post-mortem*, antes de que la carne pueda ser enfriada eficazmente; la combinación de un bajo pH y alta temperatura ocasiona una desnaturalización anormal de las proteínas musculares, generando así una carne pálida, suave y exudativa (PSE). Mientras más rápido disminuya el pH del músculo,

sus proteínas se irán acercando al punto isoeléctrico, lo cual provocará una menor retención de agua de su parte, reduciendo así el rendimiento de la carne y afectando su color, dando una apariencia pálida.

Generalmente, el pH final de las carnes PSE se encuentra normalmente por debajo de 5.5. Sin embargo, también existe la posibilidad de que la carne tenga apariencia PSE y tener un pH dentro del rango normal; esto normalmente ocurre cuando la disminución del pH es muy abrupta durante la primera hora *post-mortem*. Particularmente en el caso de los cerdos, la carne PSE se asocia a problemas de estrés agudo justo antes de la muerte del animal.

b) Color

El color de la carne fresca es el principal atributo que influye en la decisión de compra por parte del consumidor, dado que asocia el color con el grado de frescura y calidad (Brewer *et al.*, 2002).

De acuerdo con la guía AMSA (1992), los principales factores que influyen en el color de la carne cruda son: la nutrición del animal, la velocidad de enfriamiento de la canal, el tipo de músculo, la orientación de las fibras, el pH del músculo, el tiempo y la temperatura de almacenamiento *post-mortem*, el tiempo de exposición del músculo al oxígeno, el grado y distribución del marmoleo, la humedad y brillo de la superficie y la concentración de mioglobina (Braña Varela *et al.*, 2011).

El color de la carne está influido principalmente por el contenido y naturaleza de la mioglobina. El contenido de pigmento de la mioglobina es intrínseco al músculo y varía de igual manera con los factores mencionados anteriormente.

La mioglobina presenta en su grupo hemo un ion hierro reducido que cuando los niveles de oxígeno son altos se oxida. La oximioglobina presenta el grupo hemo ligado de forma reversible a una molécula de oxígeno. La metamioglobina se forma con la oxidación del grupo hemo de la oximioglobina o mioglobina. Las tres formas se encuentran en equilibrio predominando en la superficie la oximioglobina y en el

interior de la carne la mioglobina (Figura 3). La metamioglobina aparece cuando hay una disminución del pH posterior al rigor mortis.

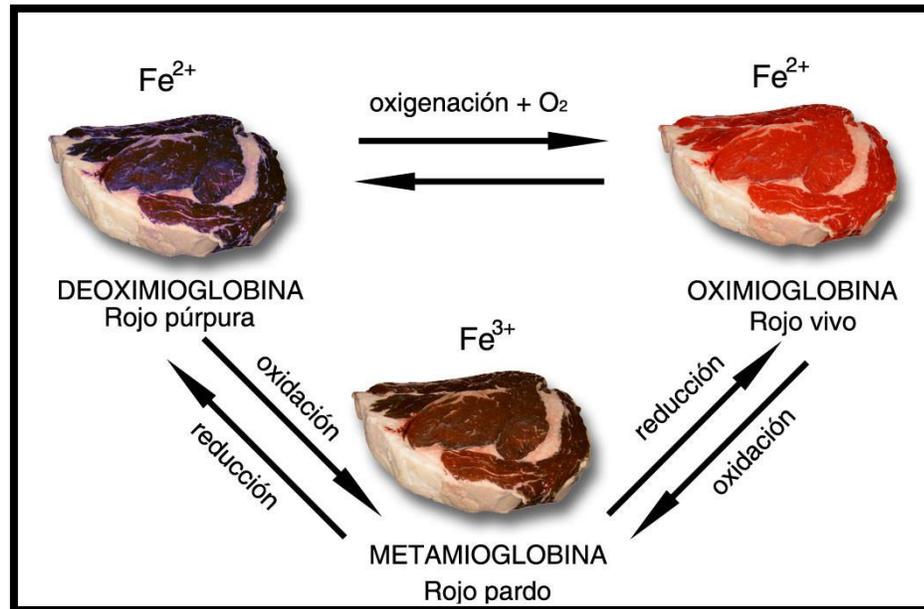


Figura 3. Reducción y oxidación de la mioglobina en la carne (Lurueam, 2011)

c) Textura

Para Weir (1960) la textura de la carne puede considerarse como la suma de tres componentes: facilidad de penetración de los dientes en la carne al inicio de la masticación, facilidad de fragmentación de la carne y cantidad de residuo que queda en la boca concluida la masticación.

La textura es una de las características sensoriales más importantes de la carne, la cual es considerada en la evaluación de calidad por parte del consumidor. La textura está relacionada con el estado e interacción de las diferentes estructuras del músculo y sus componentes (Braña-Varela *et al.*, 2011). La textura hace referencia a la estructura del músculo, depende del tamaño de las fibras y del tejido conectivo,

la textura dependerá de las características ante mórtem (especie, raza, sexo, edad, corte), es decir, no cambia tras la muerte (Lawrie, 1974).

La ternesa es la cualidad de la carne de dejarse cortar y masticar antes de la deglución, estando directamente ligada a la resistencia mecánica del producto consumible. El caso contrario sería la dureza, definida como la propiedad de la textura manifestada por una alta y persistente resistencia a la rotura en la masticación, la dificultad de cortar la carne, el grado de adhesión; la dureza depende de la cantidad y calidad del tejido conectivo, del grado de interacciones entre proteínas, grado de organización de las miofibrillas y depende también de la cantidad de grasa intermuscular; la dureza depende de los mismos factores ante mortem anteriormente mencionados que afectan la textura, no obstante, también dependerá de factores post mortem: rigor mortis y maduración (Sanz-Egaña, 1967).

La firmeza se define como la propiedad de la textura manifestada por una alta resistencia a la deformación por aplicación de una fuerza (Lawrie, 1974). La determinación de textura puede ser llevada a cabo por métodos instrumentales, como pueden ser los mecánicos (corte, compresión, penetración, etc.).

Muchas de las propiedades sensoriales de la carne como son el color, la textura y la firmeza, están relacionadas con la cantidad de agua que se tiene contenida o retenida en la carne. Desde el punto de vista industrial, la capacidad de una carne para retener el agua originalmente contenida influye en la eficiencia del sistema y dicta en parte el rendimiento final del producto. Una pobre retención de agua, provoca un goteo constante que interfiere en los sistemas de empaque, así como en sistemas de salazón en seco, entre otros (Braña Varela *et al.*, 2011). La capacidad de retención de agua es influenciada por el pH del músculo, mientras más alejado se encuentre éste del punto isoeléctrico de las proteínas del músculo, más agua se retendrá, otros factores que afectan la capacidad de retención son la especie de la carne, el tipo de fibra, la estabilidad oxidativa de sus membranas, el proceso de maduración y el sistema utilizado para congelar y descongelar la carne (Rosenthal, 1999).

1.1.7. Microorganismos de importancia en la carne de cerdo

El tejido muscular de animales sanos se encuentra libre de microorganismos, pero a medida que se expone al ambiente durante las operaciones de faenado, despiece, corte y picado, aumentan las posibilidades que favorecen el contacto y proliferación de microorganismos. Las fuentes primarias de contaminación son la piel y el contenido gastrointestinal del propio animal, la flora presente en el agua de lavado, el aire, en las paredes y superficie de rastros, así como por el contacto con cuchillos, mesas, equipos y otros productos contaminados y los propios operarios. El mayor riesgo de contaminación ocurre durante las operaciones posteriores al faenado, donde las canales se cortan para obtener los cortes y se expone la superficie interna de la canal al ambiente (Alquicira *et al.*, 2013).

Las características de la carne fresca la hacen el medio ideal para el crecimiento de microorganismos: alto contenido de humedad, alto contenido de nutrientes, pH cercano al neutro y la presencia de glucógeno, un carbohidrato fermentable. El deterioro puede ocurrir aerobia y anaerobiamente. Las bacterias aerobias que suelen deteriorar la carne generalmente son *Acinetobacterias*, *Pseudomonas* y *Moraxella*, las cuales le dan el olor a putrefacción a la carne (Gill, 1995). En ausencia de oxígeno, la población bacteriana está dominada por lactobacilos anaerobios para la carne con pH menor a 5.8. Los lactobacilos producen un sabor ácido y suave sin señales evidentes de deterioro. Sin embargo, carne con pH mayor a 5.8 es afectada por acinetobacterias psicrótrópicas como lo son *Brochothrix thermosphacta* y *Alteromonas putrefaciens*, el sabor pútrido que puede llegar a tener la carne a estas condiciones se le atribuye a la presencia de estas bacterias (Lee, 2008).

La carne además de ser altamente susceptible a deterioro también puede constituir un vehículo para la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos. Durante el sacrificio y procesamiento, todos los tejidos potencialmente comestibles pueden estar sujetos a contaminación por diversas fuentes, ya sea interna o externa al animal. Para tratar de tener un control y determinar la calidad microbiológica de la carne, frecuentemente se cuantifican microorganismos indicadores, los cuales

pueden no ser patógenos pero su presencia indica la probabilidad de que también pueden estar presentes microorganismos patógenos. Estas determinaciones incluyen la cuenta de bacterias mesófilas viables totales, coliformes totales, coliformes fecales (lo que incluye la detección de *Enterobacterias* y *Escherichia coli* también), estreptococos fecales y *Aeromonas* (Wolffs & Radstrom, 2008).

La microbiota dominante que puede llegar a causar deterioro en la carne está dominada por aquellas especies que pueden crecer más rápidamente en las condiciones de almacenamiento. A temperaturas de refrigeración, especies como *Pseudomonas* y *Lactobacillus* pueden superar a las especies competidoras bajo condiciones aerobias y anaerobias, respectivamente (Robertson, 2013).

Los microorganismos patógenos históricamente asociados a brotes por el consumo de carne, incluyen *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *Listeria*, *Aeromonas hydrophila*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* y *Yersinia* (Koochmaraie *et al.*, 2005).

Escherichia coli es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae* que fermentan la glucosa y la lactosa. Generalmente las cepas de *E. coli* son móviles, aunque también se pueden llegar a encontrar cepas inmóviles (Croxen *et al.*, 2013).

Es una bacteria presente en la microbiota de humanos y animales (por lo que en la industria se considera un signo de contaminación fecal), existen grupos patogénicos causantes de diarrea y se les conoce como *E. coli* diarreogénicas. Actualmente hay seis patotipos de *E. coli* virulentas, de ellos cuatro causan gastroenteritis en humanos. Entre estos está la cepa enterohemorrágica *E. coli* O157:H7, la cual es una variedad productora de grandes cantidades de la toxina llamada *Shiga*, la cual puede causar graves enfermedades a través de los alimentos como la colitis hemorrágica, la cual en niños y ancianos puede conducir a una enfermedad potencialmente mortal como el síndrome hemolítico urémico (BBB, 2001).

La cepa de *E. coli* productora de la toxina anteriormente mencionada puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7 °C y 50 °C. con una temperatura óptima de 37 °C. También puede llegar a proliferar en alimentos ácidos, presentando crecimiento en un pH de 4.4 y en alimentos con actividad de agua mínima de 0.95. Se encuentra principalmente en la carne, leche cruda, productos lácteos y en algunas hortalizas por contaminación cruzada. La aplicación de buenas prácticas de higiene durante el sacrificio de animales ayuda a reducir la contaminación por heces, sin embargo, no garantiza la ausencia de *E. coli* O157:H7 en la carne (OMS, 2017).

1.1.8. Conservación en refrigeración de la carne

La carne fresca se encoge, pierde peso y es rápidamente atacada por bacterias del medio en el que se encuentra. La reproducción de las bacterias aumenta con la temperatura y la humedad; cuando no se dispone de refrigeración, tradicionalmente la carne se vende al por menor en un plazo de doce horas desde la matanza, incluso con el riesgo de pérdidas debidas al encogimiento, desechos y deterioro. Los cambios físicos, químicos y microbiológicos que se producen en la carne fresca son estrictamente una función de la temperatura y la humedad (FAO, 2004).

La conservación en frío no destruye a los microorganismos, sino que únicamente inhibe o demora su crecimiento. El metabolismo bacteriano se retarda a medida que va bajando la temperatura, al igual que todas las reacciones químicas de la carne, por lo que al refrigerar lo que se hace en realidad es ralentizar todos los procesos de deterioro de la carne, ya sean bioquímicos o microbiológicos.

En la producción de carne fresca se emplea comúnmente la refrigeración por aire. El proceso de refrigeración consta de dos etapas: la disminución de la temperatura corporal en el momento del sacrificio hasta la de conservación y el mantenimiento de la canal a baja temperatura (Mor-Mur, 2001).

1.2. Envasado de alimentos

La NOM-051-SCFI/SSA1-2010 define al envase como cualquier recipiente o envoltura en el cual está contenido el producto preenvasado para su venta al consumidor, protegiéndolo de influencias externas y daño.

Las funciones tradicionales del envasado incluyen protección, comunicación, comodidad y contención del producto, estas funciones implican minimizar la pérdida, el retardo del deterioro, extensión de vida útil mantenimiento de la calidad, la seguridad e inocuidad del alimento envasado; además el envasado de alimentos ha buscado funciones adicionales mejoradas para satisfacer la tendencia del consumidor de productos mínimamente procesados con pocos aditivos, que cumplan con normativas y además aseguren la calidad e inocuidad del alimento (Lee *et al.*, 2008).

Es importante distinguir la diferencia entre “envase”, “envasado” y “embalaje”. El “envase” se refiere a la entidad física que contiene el producto. “Envasado” puede ser definido como el sistema de productos envueltos en una bolsa, caja, botella, lata, etc. o algún otro contenedor para cumplir una o más de las siguientes funciones: contener, proteger, preservar y comunicar (*Glossary of Packaging Terms*, 1988). El “embalaje” se refiere a la contención de uno o varios artículos en un envase o contenedor (Robertson, 2013).

1.2.1. Envasado a vacío

Envasar a vacío consiste en disminuir la presión interna del envase de tal manera que sea menor que la presión atmosférica, lográndose al evacuar el aire contenido en el envase. También se le conoce como envasado hipobárico (Lee *et al.*, 2008). La diferencia de presiones internas y externas puede variar ampliamente, de acuerdo con el tiempo e intensidad del proceso de evacuación durante el envasado.

El envasado a vacío es en general la condición de una despreciable cantidad de nitrógeno, oxígeno y dióxido de carbono dentro del envase.

La efectividad del envasado a vacío para la extensión de vida útil se debe principalmente al bajo o casi nulo oxígeno residual, como consecuencia de la extracción de aire: las reacciones oxidativas y respiración aerobia son reducidas. Además, el envasado a vacío se puede ver que es un mecanismo efectivo para la eliminación de posible contaminación biológica o química en la superficie del alimento. Los materiales usados para envasar a vacío deben tener una baja permeabilidad a gases y al vapor de agua y ser lo suficientemente resistentes para contener al producto. En el envasado de la carne, el material más utilizado es Polietileno de Alta Densidad. En la Figura 4 se representa el envasado al vacío de carne de res.



Figura 4. Envasado a vacío (©Svetlana Foote/Shutterstock, 2015)

1.2.2. Envases activos

El concepto de envasado activo comenzó con un cambio en la función de protección del envase, de pasiva a activa. Anteriormente, los materiales destinados al envase primario, es decir aquellos que están en contacto directo con el alimento, eran

considerados como “pasivos”, significando esto que funcionaron sólo como una barrera inerte para proteger el producto contra el oxígeno y humedad. Recientemente, una gran cantidad de nuevos materiales se han desarrollado para proporcionar una protección “activa” al producto (Lee *et al.*, 2008).

Miltz y otros (1995) definen el envasado activo como un sistema en el cual el producto, el envase y el entorno interactúan de una manera positiva para extender la vida útil o para alcanzar ciertas características que de otra manera no podrían ser obtenidas.

El envasado activo se refiere a la incorporación de ciertos elementos activos al sistema de empaclado (ya sea liberado desde el interior del envase o forme parte del material que conforma el envase) con el objetivo de mantener o extender la calidad del producto y su vida útil (Hutton, 2003).

En un estudio multinacional europeo, Actipak lo ha definido también como sistema de envasado que cambia activamente las condiciones del alimento envasado para extender su vida útil o mejorar sus propiedades sensoriales o su seguridad, manteniendo la calidad del alimento (Ahvenainen, 2003).

En general, se puede decir que el envasado activo de alimentos aporta una serie de funciones que no existen en los sistemas de envasado convencional (Tabla 3, página 20). Estas funciones juegan un rol importante en la vida útil de los productos envasados, pueden llegar a intervenir en los procesos fisiológicos (respiración de frutas y vegetales frescos), procesos químicos (por ejemplo, oxidación lipídica), procesos físicos (envejecimiento del pan, deshidratación), aspectos microbiológicos e infestación (insectos). Estas condiciones pueden ser reguladas de muchas maneras por medio de la aplicación de sistemas activos apropiados (De Kruijf *et al.*, 2002).

Las tecnologías de envases activos involucran algunas acciones físicas, químicas y biológicas para modificar las interacciones entre el envase, el producto y el espacio

entre ellos para alcanzar las características deseadas. La Figura 5 esquematiza la interacción que existe entre el producto, el envase y el entorno. La transferencia de materia que existe entre estos tres medios depende de las características de los materiales.

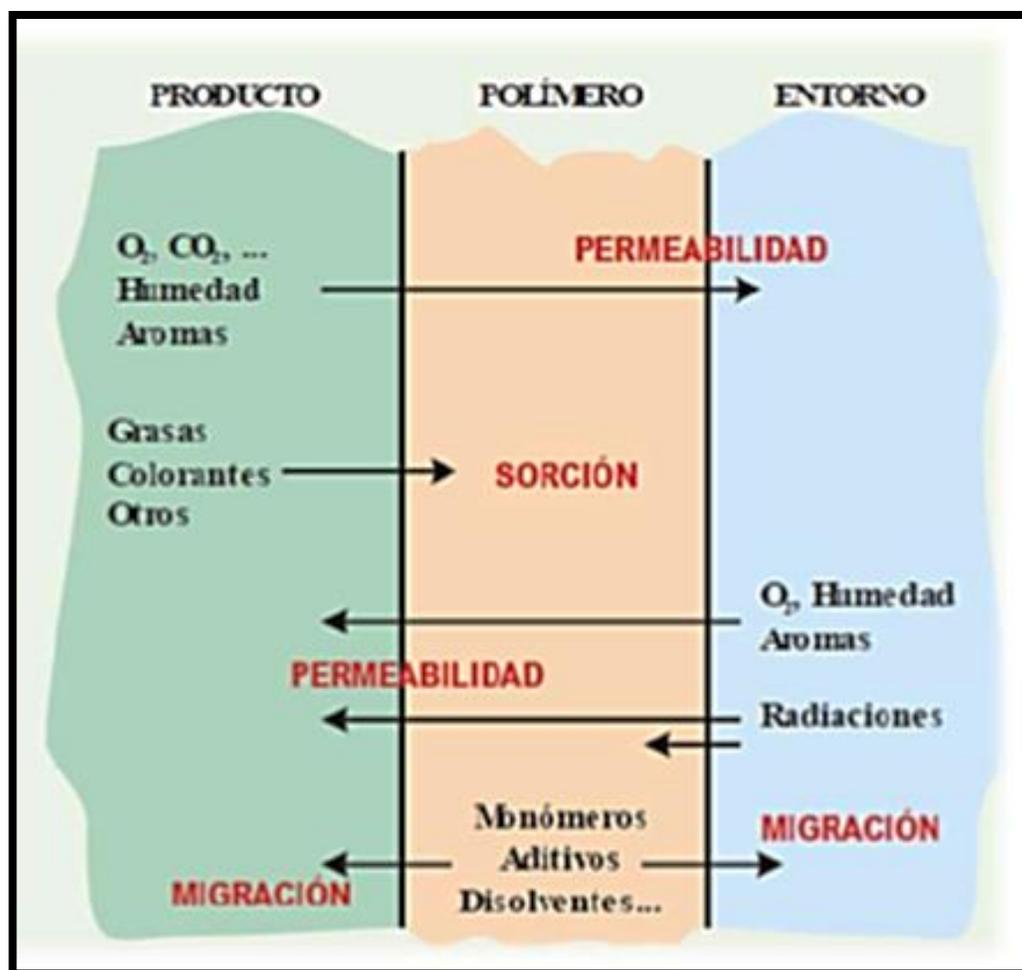


Figura 5. Interacción entre producto-polímero-ambiente en un envase activo (Adaptada de Ozdemir & Floros, 2010)

Tabla 3 *Principales factores de deterioro de alimentos y la solución a estos (Han, 2005)*

Factor de deterioro	Solución
Oxidación	Absorbedores de oxígeno, Antioxidantes
Desarrollo microbiano	Antimicrobiano, dióxido de carbono
Pérdida de humedad	Humectantes
Condensación/exudado	Almohadillas absorbentes, desecantes
Acumulación de gas	Absorbedores de dióxido de carbono
Aromas indeseables	Carbón/liberadores de aroma y sabor

1.2.3. Clasificación de los envases activos

De acuerdo con Sun Lee *et al.*, (2008) los envases activos se pueden clasificar en tres categorías principales:

Categoría I: Sistemas de absorción

Esta tecnología usa películas o bolsas para remover los gases o sustancias indeseadas de los envases, como oxígeno, dióxido de carbono, humedad, etileno, olores, etc., para poder alcanzar una atmósfera interna favorable, estos componentes pueden existir desde que se empaca el alimento en la producción, puede ser también producido por actividades fisiológicas del alimento o penetrar al envase. En la Tabla 4 se describe con mayor detenimiento las aplicaciones que se han llegado a desarrollar en la industria del envasado.

Tabla 4. Ejemplos de sistemas de absorción en envases activos (Lee et al., 2008)

Tipo	Material	Principio de funcionamiento	Aplicaciones
Absorbedor de humedad	Gel de sílice, poliacrilato, CaO,, azúcar, sales inorgánicas	Adsorción de humedad, reacción de hidratación	Retención de bajo contenido de humedad, productos secos, eliminación de exceso de agua en la superficie de la carne.
Absorbedor de oxígeno	Hierro reducido, ácido ascórbico, sulfato, oxidasas	Oxidación de Fe, ácido ascórbico y sulfatos. Oxidación de glucosa.	Reducción o prevención de crecimiento microbiano aerobio; reducción de oxidación de grasas y productos secos.
Absorbedor de dióxido de carbono	Ca(OH) ₂ , Na ₂ CO ₃ , zeolita, gel de sílice	Reacción química con el dióxido de carbono; adsorción física	Prevención del abultamiento del envase o combustión causado por el CO ₂ proveniente de la fermentación de ácido láctico.
Absorbedor de etileno	KMnO ₄ en óxido de aluminio o gel de sílice; SiO ₂ , zeolita, carbón activado	Oxidación de etileno; adsorción física	Retarda la madurez y senescencia de productos frescos.

Categoría II: Sistemas de emisión

En estos sistemas se añaden compuestos deseados, como etanol, dióxido de carbono, antimicrobianos, antioxidantes, enzimas, sabores, etc., para proteger y mejorar la calidad del producto. Existe una liberación controlada de estos compuestos hacia el alimento. El efecto deseado sería mejorar la estabilidad de almacenamiento y extender la vida útil. En la Tabla 5 se describe de manera más detallada las distintas aplicaciones de estos sistemas.

Categoría III: Otros sistemas

Estos sistemas incluyen diferentes funciones como autocalentamiento o enfriamiento, indicadores de temperatura, receptor de microondas, películas selectivamente permeables, etc. Estos otros sistemas van más orientados al área de envases inteligentes.

Tabla 5. *Ejemplos de sistemas de emisión en envases activos (Lee et al., 2008).*

Tipo		Material	Principio de funcionamiento	Aplicaciones
Liberador de dióxido de carbono		Ácido ascórbico, FeCO ₃ , NaHCO ₃ , Na ₂ CO ₃	Hidrólisis de FeCO ₃ , reacción de NaHCO ₃ o Na ₂ CO ₃ con ácidos orgánicos, oxidación de ácido ascórbico.	Inhibición y reducción de crecimiento de bacterias Gram negativas y mohos, prevención de colapsos en envases.
Antimicrobianos		Antimicrobianos incorporados o encapsulados en el material de envase o en la superficie del mismo.	Liberación de agentes microbianos sobre la superficie del alimento en contacto.	Inhibición del crecimiento microbiano, disminución de la velocidad de crecimiento.
Antioxidantes		Antioxidantes incorporados en los materiales o en la superficie interna del envase.	Liberación de antioxidantes o consumidores de oxígeno.	Retardar los procesos de cambios oxidativos.

1.2.4. Aplicación de envases activos antimicrobianos

El envase antimicrobiano es un tipo de envase activo que interactúa con el producto y/o el espacio de cabeza dentro para reducir, inhibir o retardar el crecimiento de microorganismos que pueden estar presentes en la superficie de los alimentos, ya sea de manera natural o por contaminación cruzada (Rossi *et al.*, 2017).

Los envases antimicrobianos se basan en el principio de liberar un componente activo a través del material de envase hasta llegar al alimento, teniendo mayor efectividad que si se incorporaran al producto, debido al control de migración de estos agentes hacia la superficie del producto. La liberación controlada de los agentes antimicrobianos del envase a la superficie del alimento es capaz de inhibir, reducir o controlar el crecimiento microbiano utilizando una pequeña cantidad de agentes antimicrobianos en comparación con las cantidades requeridas si estos agentes se añadieran al alimento (Sun Lee *et al.*, 2008).

La incorporación de sustancias antimicrobianas en un sistema de envasado tiene varios enfoques. Uno de ellos es adicionar el antimicrobiano en el material destinado para el envase, en algunos casos se añade durante el proceso de extrusión del material. La principal desventaja de este método es la baja efectividad que tiene, ya que el antimicrobiano no está disponible en su totalidad para ejercer su efecto antimicrobiano (Quintavalla & Vicini, 2002). Los agentes antimicrobianos también pueden ser incorporados de manera directa en los materiales de envase en forma de películas, recubrimientos, hojas, charolas y contenedores, o en los espacios disponibles en forma de bolsas (Hann, 2005).

Cuando los agentes antimicrobianos se añaden dentro de la estructura del envase, además de la función de obstaculizar, también se alcanzas las siguientes tres propiedades: liberación, absorción e inmovilización. Los envases que tienen la función de liberar permiten la migración de los agentes antimicrobianos del envase hacia el alimento. Los sistemas de absorción remueven los factores esenciales para el crecimiento de los microorganismos inhibiendo así el crecimiento del mismo. Los sistemas de inmovilización no liberan agentes, pero suprimen o disminuyen el crecimiento microbiano en la superficie del alimento (Ahvenainen, 2003).

1.3. Nanotecnología

La nanotecnología es el diseño, caracterización, producción y aplicación de estructuras, componentes y sistemas creados por la manipulación controlada de tamaño y forma en la escala nanométrica que produce estructuras, componentes y sistemas con al menos una característica o propiedad novedosa o superior (Bawa *et al.*, 2005).

Lo que caracteriza a la nanotecnología como tecnología emergente son dos aspectos de gran importancia que la hacen única. El primero es que trata de construir de lo más pequeño, que serían átomos y moléculas, a lo más grande, el

producto final; la novedad radica en que ahora los átomos y moléculas se pueden manipular de manera directa para construir producto. En segundo lugar, se encontró que a este nivel atómico cualquiera de los átomos manipulados demuestra tener propiedades físicas diferentes a las que tendría a una escala mayor. Estas propiedades pueden ser mayor resistencia, mayor conductividad eléctrica, cambio de color, etc., lo cual se ha aprovechado para el desarrollo de productos novedosos con características únicas (Foladori *et al.*, 2006).

La introducción de la nanotecnología en la industria de los alimentos ha traído muchos beneficios, uno muy notable es el fácil transporte de alimentos a diferentes partes del mundo mediante la ampliación de la vida útil de varios productos (Hamad *et al.*, 2018), también ha demostrado ser muy útil al permitir un seguimiento y rastreo de contaminantes, almacenamiento mejorado, incorporación de suplementos para la salud o agentes antibacterianos, entre otras cosas (Neo *et al.*, 2013). En cuanto al área de envasado de alimentos, la nanotecnología se ha abierto camino en la innovación de materiales y métodos analíticos para proporcionar a los consumidores alimentos más saludables y de igual manera reducir el impacto ecológico de la cadena alimentaria (Rossi *et al.*, 2017).

Entre la amplia aplicación de la nanotecnología en el área de alimentos, específicamente en materiales para el envasado de alimentos, se tiene como ejemplo que casi todos materiales a base de carbono han sido estudiados para la mejora de sus propiedades mecánicas, se ha incorporado nanoarcillas y nanocristales para mejorar las propiedades mecánicas (módulo elástico, dureza, resistencia a la tracción) y térmicas (punto de fusión, temperatura de transición vítrea) de los materiales destinados a envasar alimentos (de Azeredo, 2009). En particular, la mejora de estas propiedades puede permitir el uso de empaques más delgados, reduciendo así la cantidad de materia prima requerida, costos de transporte, almacenamiento y reciclaje, y finalmente la huella ecológica de los envases de alimentos (Silvestre *et al.*, 2011).

1.3.1. Nanocápsulas

Las nanocápsulas son partículas de tamaño coloidal, que poseen diámetros que varían entre 1 y 1000 nanómetros. Se ha desarrollado una amplia variedad de nanocápsulas compuestas por una variedad de materiales que incluyen lípidos, polímeros y materiales inorgánicos, lo que resulta en diversos de administración que varían en sus propiedades físicoquímicas y, por lo tanto, en sus aplicaciones (Paciotti *et al.*, 2006).

La encapsulación de nanopartículas puede ser aplicada para proteger los ingredientes activos, involucra el aislamiento de un compuesto de su entorno externo, atrapándolo en un material que tiene como función protegerlo, de esta manera los compuestos pueden ser agregados al material fundido y ser extruido sin comprometer su calidad (Wrona *et al.*, 2017). La encapsulación de elementos activos también tiene como objetivo la liberación controlada del mismo al sistema.

La adición de nanocápsulas al procesado de alimentos trae consigo diversos beneficios, dependiendo del elemento activo: protege contra la oxidación, mejora la estabilidad del sistema, mejora la capacidad de retención de compuestos altamente volátiles, potencializa y/o preserva el sabor, liberación controlada desencadenada por cambios en la humedad, pH, las propiedades organolépticas se conservan por mayor tiempo (Chaundhry *et al.*, 2008). Su efectividad depende de la biodisponibilidad de cada componente encapsulado.

1.3.2. Métodos de preparación de nanocápsulas

En la actualidad se han desarrollado varios métodos para la preparación de nanocápsulas, existen seis métodos clásicos: nanoprecipitación, emulsión-difusión, emulsificación-evaporación, doble emulsión, coacervación en emulsión, revestimiento de polímero (Mora-Huertas *et al.*, 2010). Actualmente los más

utilizados, especialmente en la industria farmacéutica son: nanoprecipitación, emulsión difusión y emulsión-evaporación.

a) Nanoprecipitación

De acuerdo con Fessi *et al.*, (1988), la síntesis de nanocápsulas necesita una fase solvente y otra no solvente. La fase disolvente consiste en una solución en un disolvente o en una mezcla de disolvente (etanol, acetona, hexano o cloruro de metileno) de una sustancia formadora de una película, como sería un polímero (sintético, semisintético o de origen natural), la sustancia activa, el aceite, un tensoactivo lipofílico y una sustancia disolvente o disolvente oleoso. Por otro lado, la fase no solvente consiste en un no solvente o en la mezcla de estos, para la sustancia formadora de película, complementando con uno o más tensoactivos naturales o sintéticos. Las nanopartículas se obtienen como una suspensión coloidal formada cuando la fase orgánica se agrega lentamente y con moderada agitación a la fase acuosa.

b) Emulsión-difusión

Consiste en la formación de una emulsión convencional aceite en agua entre un disolvente parcialmente miscible en agua, el cual contiene el polímero y la sustancia activa, y la fase acuosa que contiene el estabilizante; con el fin de hacer posible la difusión. Al adicionar la fase acuosa el disolvente se difunde en la fase externa, formándose así las nanopartículas. La solución es agitada para producir la precipitación de las nanopartículas, posteriormente se recuperan por centrifugación (Quintanar *et al.*, 1998)

c) Emulsión-evaporación

Básicamente consiste en la disolución de un polímero y compuesto activo en un disolvente orgánico. La emulsión se prepara mediante la adición de agua y un surfactante a la solución de polímeros y se homogeneiza la solución, en algunos la emulsión se obtiene por ultrasonificación. El disolvente orgánico se evapora

posteriormente y las nanopartículas se recuperan en la mayoría de los casos por centrifugación.

1.3.3. Aceites esenciales para encapsulación

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes).

Los aceites esenciales son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden ser: compuestos alifáticos (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres), monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos (Martínez, 2003).

Recientemente, se han comenzado a utilizar en gran medida los aceites esenciales como agentes activos en la industria de los alimentos dado que han demostrado tener propiedades antioxidantes y antimicrobianas; el uso de estas sustancias ha ido en aumento debido a que representan un bajo riesgo para el consumidor dado su origen natural.

El aceite de romero ha demostrado tener gran potencial para ser utilizado en la industria farmacéutica y alimentaria, ya que el aceite esencial obtenido de sus hojas es considerado un antimicrobiano natural.

La especie vegetal *Rosmarinus officinalis*, perteneciente a la familia *Lamiaceae*, mejor conocida como romero, es originaria del mediterráneo; es una especie rica en metabolitos activos, razón por la cual es usada frecuentemente en la medicina tradicional, por sus efectos digestivos, antiespasmódicos y laxantes (Abutbul *et al.*, 2004).

Los componentes mayoritarios en la composición del aceite esencial de *R. officinalis* son 1,8 cineol, alcanfor y alfa pineno, en la Tabla 6 se pueden observar la composición en porcentaje de estos componentes. Es importante destacar que tanto el 1,8 cineol como el alcanfor han demostrado tener actividad antimicrobiana frente a diversos microorganismos (Romeu, *et al.*, 2007; Rota *et al.*, 2004).

Tabla 6 *Composición del aceite esencial de romero R. officinalis (Romeu et al., 2007).*

Componente	%
Alfa pineno	15.3
Camfeno	5.7
Mirceno	4.9
Limoneno	3.7
1,8 cineol	21.5
Alcanfor	18
Borneol	3.7
Cariofileno	3.4

Las hojas de romero contienen compuestos con clara actividad antimicrobiana sobre microorganismos de importancia en contaminaciones alimentarias. El potencial de utilidad del aceite esencial de romero se evidencia considerando los bajos valores de Concentración Mínima de Inhibición (CIM) para el organismo que se desee atacar, y la alta Dosis Letal media (DL₅₀) reportada para esta planta (Castaño *et al.*, 2010).

Se han realizado estudios *in vitro* con extractos de *R. officinalis* en los que se ha evaluado su actividad contra bacterias Gram positivas y Gram negativas (Castaño

et al., 2010). En el 2004 Rota *et al.*, evaluaron la actividad del aceite de romero contra *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri*, *Listeria monocytogenes* y *Pseudomonas aeruginosa*, demostrando una mejor actividad inhibidora frente *L. monocytogenes* y *S. aureus*.

En el 2009 Lee *et al.* probaron el *R. officinalis* contra *S. typhimurium*, *Enterobacter sakazakii*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus* y *L. monocytogenes*, demostrando que en efecto existe una inhibición en el crecimiento de estas bacterias en presencia del aceite de romero, especialmente bacterias Gram positivas.

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

2.1 Problema

En los últimos años aumentó la producción mundial de carne de cerdo, México se ha abierto camino en mercados internacionales como exportador de carne de cerdo, razón por la cual ha surgido la necesidad de cumplir con normatividades internacionales y altos estándares de calidad. La carne fresca es altamente susceptible a ser contaminada microbiológicamente y a deteriorarse rápidamente si no se cuenta con un almacenamiento adecuado, lo que consecuentemente ha traído el desarrollo de nuevas tecnologías para el aumento en vida útil. El desarrollo de envases activos que eviten la contaminación microbiana y además incrementen la vida útil del producto conservado ha ido en aumento principalmente en los productos destinados a exportación, como lo es la carne de cerdo.

2.2 Objetivos.

a) Objetivo general.

Evaluar la efectividad de un envase activo con base en nanocápsulas de aceite esencial de romero sobre la conservación de lomo de cerdo envasado a vacío y almacenado a 0 °C, determinando los cambios en propiedades físicas, fisicoquímicas, microbiológicas y texturales que promuevan el incremento de vida útil de producto.

b) Objetivos Particulares

Objetivo Particular 1

Relacionar los cambios fisicoquímicos en el lomo de cerdo fresco, como respuesta al envasado activo, con y sin vacío, con y sin nanocápsulas de aceite esencial de romero, inoculada con *E. coli* y sin inocular, estableciendo su influencia en parámetros de calidad del producto, a través de la medición de pH, acidez, color y pérdida de peso, durante la conservación en refrigeración del producto.

Objetivo Particular 2

Establecer el efecto de los cambios texturales en el lomo de cerdo fresco, como respuesta al envasado activo, con y sin vacío, con y sin nanocápsulas de aceite esencial de romero, inoculada con *E. coli* y sin inocular, analizando su influencia en parámetros de calidad del producto, determinando su capacidad de retención de agua, firmeza y dureza por pruebas de corte y análisis de perfil de textura, durante la conservación en refrigeración del producto.

Objetivo Particular 3

Determinar los cambios microbiológicos en el lomo de cerdo fresco, como respuesta al envasado activo, con y sin vacío, con y sin nanocápsulas de aceite esencial de romero, inoculada con *E. coli* y sin inocular, estableciendo su influencia en el crecimiento de coliformes totales, a través de análisis microbiológicos y cuantificación de la producción de dióxido de carbono.

2.3 Selección de variables

Con base en los objetivos planteados seleccionaron tres factores de variación (nanocápsulas de aceite de romero, vacío e inoculación de bacteria *E. coli*) y se

estudiaron sus efectos con dos niveles de variación. Se realizaron pruebas al producto para desarrollar el análisis del efecto de estos factores. En la Tabla 7 que se presenta a continuación se puede observar los factores de variación.

Tabla 7. Factores y niveles de variación en el diseño experimental.

Factor de variación	Nivel de variación	No. de réplicas	Variable Dependiente	Variable de respuesta	Técnica Instrumento
Nanocápsulas de aceite de romero	Con nanocápsulas	3	% pérdida de peso		Balanza digital
			Líquido drenado		Jeringa graduada
	pH		Potenciómetro		
	Sin nanocápsulas		Acidez	Ácido láctico	Titulación
Con vacío			Luminosidad	Color	Colorimetría Espectrofotómetro
	Cromaticidad				
	Ángulo de tono				
Vacío	Sin vacío		Concentración Oxígeno y Dióxido de Carbono	Velocidad de producción de CO ₂	Analizador de CO ₂ y O ₂ Quantek
		E. coli	Con inoculación	Capacidad de retención de agua	Textura
Dureza	APT Texturómetro				
Elasticidad					
Cohesividad					
Sin inoculación		Firmeza	Método Warner-Brätzler Texturómetro		

2.4 Diseño de experimentos

Se realizó un diseño factorial fraccionado con tres factores (Recubrimiento, Vacío, Inoculación), teniendo dos niveles de variación en cada uno (con y sin recubrimiento, con y sin vacío, con y sin inoculación de *E. coli*). Se elaboró un análisis de varianza de dos vías en donde se determinó que $p < 0.05$ representa estadísticamente diferencias significativas en los tratamientos. Se desarrollaron cinco tratamientos diferentes que se muestran a continuación en la Tabla 8:

Tabla 8. *Tratamientos aplicados al envase activo*

Nanocápsulas	Inoculación	Vacío	Código
Sin nanocápsulas	Sin inoculación	Sin vacío	Control
2 mL de aceite de romero en nanocápsulas	Sin inoculación	260 mbar	2 Ac 260 mbar
Sin nanocápsulas	1.8x10 ³ UFC/mL	260 mbar	Inoc 260 mbar
2 mL de aceite de romero en nanocápsulas	1.8x10 ³ UFC/mL	Sin vacío	2 Ac Inoc
1 mL de aceite de romero en nanocápsulas	0.9x10 ³ UFC/mL	510 mbar	1 Ac 900 510

Para el análisis de datos se realizó un ANOVA empleando el programa de computadora MINITAB 17. Los resultados corresponden a las tres repeticiones que se realizaron a cada prueba, a excepción de las pruebas de textura, que fueron cinco.

2.5 Actividades preliminares

2.5.1 Acondicionamiento de la cámara de refrigeración

Previo al almacenamiento del lomo de cerdo, se llevó a cabo la caracterización de la cámara de refrigeración en donde se almacenarían las muestras, con el fin de ajustar la temperatura de la cámara a 0 ± 1 °C. Se tomó lectura de la temperatura y humedad relativa cada 30 minutos por 24 horas utilizando un termohigrómetro marca *Lasca Electronics Modelo USB-2 Data Logger*. En la Figura 6 se observan los puntos de monitoreo en donde se colocaron los termohigrómetros: en el centro de cada sección.

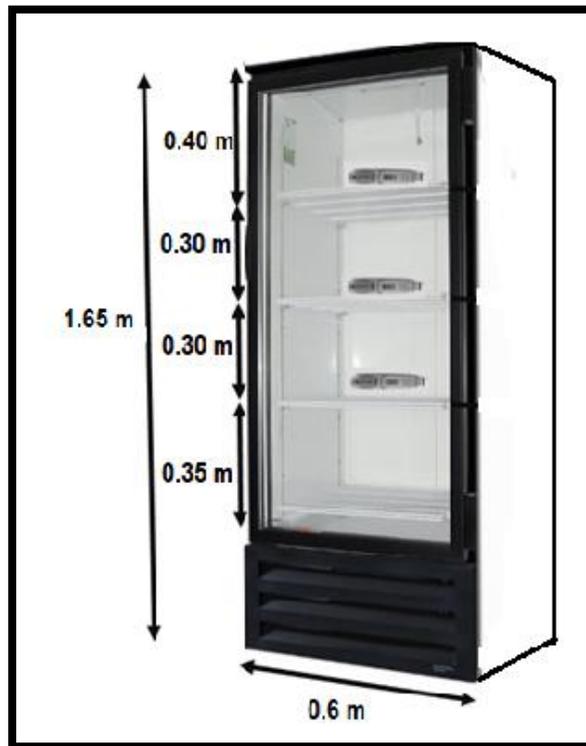


Figura 6. Ubicación de termohigrómetros en la cámara de refrigeración

2.5.2. Determinación microorganismo a inhibir, concentración del microorganismo a inocular y selección de agente inhibidor.

Se realizaron pruebas de inhibición de crecimiento de las bacterias *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Staphylococcus aureus* en agar infusión cerebro-corazón (BHI) con el plástico del envase recubierto con nanocápsulas de aceite de romero (1 mL/L), eugenol (0.2 mL/L) y mezcla aceite de romero-eugenol (1 -0.2 mL/L respectivamente) para evaluar el halo de inhibición de las nanocápsulas en el crecimiento de las bacterias antes mencionadas. Las pruebas se realizaron con sembrado masivo en los agares a diferentes concentraciones: 1.5×10^8 UFC/mL y 1.5×10^5 UFC/mL. Al observarse que a la concentración de 1.5×10^5 UFC/mL no crecían uniformemente las colonias, se optó por colocar una gota sobre el agar y encima colocar el plástico con el recubrimiento, cada gota contenía 0.6×10^3 UFC/mL, procedimiento propuesto por Marino *et al.*, en

el 2001, ya que de esta manera se simulaba mejor la experimentación posterior con el producto y . Se inocularía la carne y se colocaría encima el envase con la película

Finalmente se aumentó la concentración hasta 1.8×10^3 UFC/mL. Se realizaron pruebas de inhibición nuevamente. Se eligió esta concentración debido a que es la concentración mínima que la carne ha llegado a presentar por contaminación cruzada (Franco *et al.*, 2013).

2.5.3. Preparación de nanocápsulas por emulsificación- evaporación

Las nanocápsulas con aceite de romero como elemento activo se prepararon por el método emulsificación- evaporación. Se realizó una dispersión de aceite de romero (2 g/L) con poli- ϵ -caprolactona, la cual conformaría la fase orgánica y el estabilizante alcohol polivinílico conforma la fase acuosa. Para la emulsificación se homogeneizó a 4000 rpm durante 10 minutos. Posteriormente se adicionó una dispersión de ácido poliláctico, montmorillonita y glicerol como plastificante.

2.5.4. Evaluación de tamaño de partícula e índice de polidispersión de nanocápsulas

El tamaño de partícula e índice de polidispersión de las nanocápsulas se determinaron mediante la técnica de dispersión de luz láser con un ángulo fijo de 90° utilizando el equipo Zetasizer 4 a 25 °C. Para llevar a cabo la medición es necesario diluir las muestras con agua destilada. Las mediciones se realizaron por triplicado.

2.5.5. Selección de materia prima

Se obtuvo la carne en un obrador y distribuidor de carne de cerdo (establecimiento en donde se cuenta con el área de corte y deshuese) ubicado en Cuautitlán de Romero Rubio, en donde se tiene una recepción de canales de cerdo a 2 °C \pm 2 °C cada 24 horas, (después de las 36 horas del preenfriamiento necesarias posteriores al sacrificio).

La carne destinada a esta experimentación se obtuvo 3 horas después de la recepción de canales en el establecimiento, en estado de *post rigor*, ya deshuesada y cortada, de aproximadamente 2 cm de espesor para facilitar el envasado y la preparación de las muestras para las pruebas de textura. La temperatura de recepción fue de ≈ 4 °C. La carne se adquirió en el mismo establecimiento en dos días distintos, de acuerdo con las necesidades de la experimentación.

2.5.6. Preparación de muestras (inoculación)

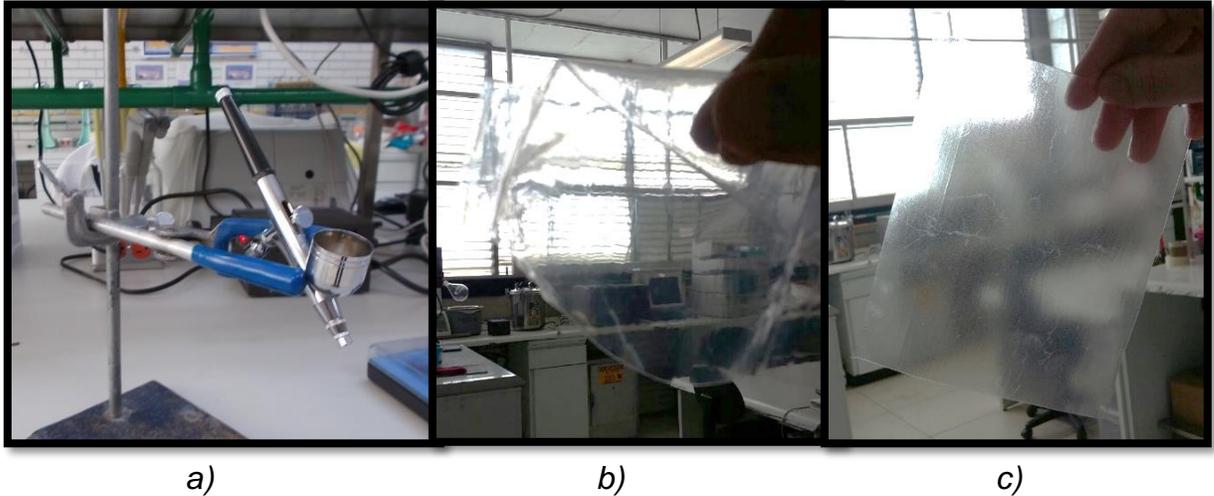
Se realizó una adaptación de la metodología descrita por Wang, *et al.* (2017), la cepa de *E. coli* se sembró en agar infusión cerebro-corazón (BHI) y se incubó a 37 °C durante 24 horas, posteriormente se sembró por estrías en placas de agar nutritivo y se incubó a 37 °C durante 24 horas. Transcurrido ese tiempo se tomó una colonia aislada, la cual se colocó en caldo BHI y se incubó a 37 °C durante 24 horas.

Para la preparación del inóculo, se centrifugó la suspensión con microorganismos a 15000 rpm durante 15 minutos a 4 °C, se descartó el sobrenadante y el pellet fue suspendido en 5 mL de agua peptonada al 0.1 % estéril para volverse a centrifugar a 15000 rpm durante 15 min a 4 °C, nuevamente se descartó el sobrenadante y el pellet obtenido se suspendió en agua peptonada al 0.1 %. Se determinó la concentración del inóculo por medio de Nefelometría.

2.5.7. Aspersión de nanocápsulas en la superficie del envase

Empleando un aerógrafo marca ADIR se asperjó la solución de las nanocápsulas sobre la superficie del plástico que conforma al envase. El aerógrafo se colocó a una altura de aproximadamente 12 centímetros sobre el plástico con ayuda de un soporte universal (Figura 7a), esto para facilitar el asperjado a lo largo del plástico, pero también para tener un control de la altura a la cual iba a ser asperjado y asegurarse de que éste fuera homogéneo a lo largo del plástico. Se asperjó aproximadamente 1.2 mL nanocápsulas por envase, esto con base a los resultados de pruebas de inhibición microbiana (ver apartado 2.5.2). Es importante mencionar que al asperjar las nanocápsulas sobre el plástico transparente, este se vuelve

opaco, dependiendo de la cantidad de nanocápsulas asperjadas (Figura 7c), por lo que es importante controlar el asperjado homogéneo.



a) b) c)
Figura 7. Aspersión de nanocápsulas en la superficie del envase a) Montaje de aerógrafo. b) Antes de aplicar el recubrimiento. c) Después de aplicar el recubrimiento

2.5.8. Curva de crecimiento de *E. coli*

Se construyó la curva de crecimiento de la bacteria *E. coli*, de acuerdo con la metodología propuesta por Mendoza *et al.*, (1993). Se inoculó un trozo de lomo de cerdo (aprox. 100 g) con una solución estandarizada de *E. coli* (1×10^8 UFC/mL, aprox 100 μ L), se distribuyó en la superficie de la carne, se partió en 6 trozos del mismo tamaño y se colocó en la incubadora en cajas petri (37 °C). Se extrajo un trozo de carne durante cada hora por 5 horas. Cada trozo se maceró en tubos Tembroeck con 2 mL de agua peptonada, del líquido obtenido se colocaron 50 μ L en tubos Eppendorf con agua peptonada. Se realizaron 5 diluciones decimales. De cada dilución se tomaron 15 μ L y se colocaron en placas de agar BHI. Al transcurrir las 5 horas se colocaron las cajas Petri en la incubadora a 37 °C durante 24 h. En la Figura 16 (página 50) se puede observar la curva de crecimiento que se construyó a partir de los resultados de la experimentación.

Se realizó el mismo procedimiento con un pedazo de lomo de cerdo en contacto con en el envase activo (recubrimiento con 2mL/L de aceite de romero).

2.5.9. Envasado de muestras

Se envasó aproximadamente 100 g de carne en bolsitas de polietileno de alta densidad de 12 x 15 cm, se sellaron térmicamente con la Campana de gases MULTIVAC, para los lotes que necesitaban vacío, la misma campana proporcionó el vacío (260 mbar). Una vez envasadas, las muestras se almacenaron en la cámara de refrigeración a 0 °C durante 5 semanas.

Los 260 mbar se fijaron tras realizar una prueba de textura, en la que se determinó el pico de deformación del lomo de cerdo fresco. Tras esta prueba se determinaron que el envasado a 260 mbar evitaría deformación del lomo de cerdo al envasar, lo que a su vez afectaría los resultados de las pruebas realizadas a la carne después de envasarla.

- Características del material

El material utilizado para elaborar los envases que almacenaron la carne. fue donado por la empresa Sealed Air de México Operations S. de R. L. de C. V., fabricado por Cryovac México. En la Tabla 9 (página 39) se presentan las propiedades generales del material empleado; el cual es una película multicapa formada principalmente de polietileno de alta densidad, coextruida flexible, diseñada para ser utilizada en cualquier sistema de termoformado, proporciona una excelente formabilidad y encogimiento.

Tabla 9. *Propiedades generales del material de envasado (Sealed Air de México Operations S. de R.L. de C.V.)*

Material	T6040B
Ancho [cm]	12
Espesor [mils]*	40
T° de formado [°C]	75° a 90°
T° de sellado [°C]	130° a 160°
Tasa de transmisión de oxígeno a 23 °C, 0 % HR [cm ³ /100 in ² /24 h]	0.33
Tasa de transmisión de vapor de agua a 38 °C, 100 % HR [g/100 in ² /24 h]	0.26
Resistencia de sello [lb/in]	8.0

*mils milésimas de pulgadas

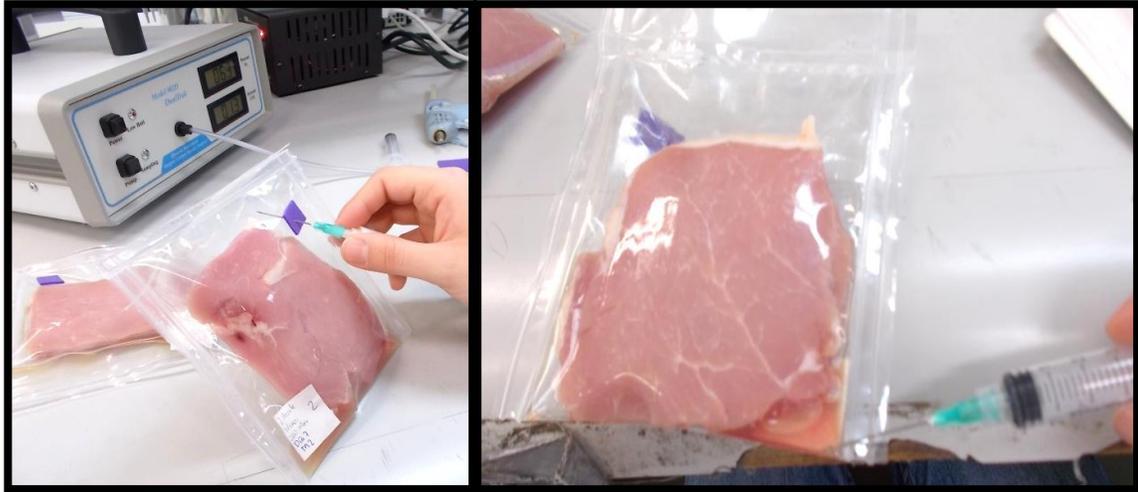
2.6. Actividades experimentales

2.6.1. Concentración de oxígeno y dióxido de carbono en el espacio libre de cabeza

Para medir la concentración de CO₂ en el envase, producido a causa de la presencia de *E. coli*, se utilizó el analizador de gases QUANTEK Modelo 905D (Figura 8a), colocando un trozo de etilvinilacetato de 1 cm x 1 cm sobre el envase en el espacio de cabeza, para impedir la fuga de gas del envase, se introdujo la punta de la aguja del analizador de gases, procurando que no toque ninguna superficie tanto del interior del envase como de la superficie de la carne.

2.6.2. Evaluación de líquido drenado

Para la cuantificación de líquido drenado de la carne en los envases se siguió la metodología descrita por Joo *et al.* en 1995 se extrajo con la ayuda de una jeringa graduada, con la misma se conoció el volumen de líquido drenado de la carne (Figura 8b).



a)

b)

Figura 8. Pruebas al envase sellado. a) Determinación de la concentración de O₂ y CO₂. b) Extracción de líquido drenado

2.6.3. Evaluación de pérdida de peso

Para la evaluación de pérdida de peso se registró el peso inicial de la carne envasada (100 g) y el peso al momento de hacer el muestro. El peso se determinó con la balanza analítica marca ScoutPro. El porcentaje de pérdida de peso se determinó empleando la siguiente ecuación (ec. 1):

$$\% \text{ pérdida de peso} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

2.6.4. Color

Se empleó el equipo Colorímetro Minolta modelo CM-600d para la determinación de color; el equipo fue calibrado empleando una placa blanca como referencia antes de realizar cada medición (Figura 9). La muestra se dejó al aire libre durante 30 minutos para permitir la oxigenación de la mioglobina. El software del equipo proporcionó los datos de L*, a* y b*. Con dichas coordenadas se obtuvo el ángulo

de tonalidad ($^{\circ}\text{Hue}$) y la cromaticidad (croma), los cuales fueron determinados mediante las siguientes ecuaciones (González-Hurtado *et al.*, 2014):

$$^{\circ}\text{Hue} = \tan^{-1}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad \text{Ecuación 2}$$

$$\text{Croma} = \sqrt{a^2 + b^2} \quad \text{Ecuación 3}$$



Figura 9. Medición de color empleando el colorímetro

2.6.5. pH

La determinación de pH se llevó a cabo empleando un potenciómetro digital marca *Hanna Instruments* modelo HI213, previamente calibrado, con soluciones de buffer 4 y 7, al realizar cada medición (Figura 10). La muestra fue triturada y posteriormente filtrada para eliminar el tejido conectivo, de acuerdo con método oficial de la AOAC 981.12



Figura 10. Medición de pH

2.6.6. Porcentaje de ácido láctico

Para la determinación del porcentaje de ácido láctico, se siguió la metodología descrita en la norma NMX-F-511-1988, el cual consiste en determinar la acidez por medio de una titulación ácido-base con una solución de hidróxido de sodio 0.1 N y fenoftaleína al 1% como indicador. Se tomaron alícuotas de 10 mL de la solución de carne filtrada empleada para medir el pH (Figura 11). Se cuantifica el volumen gastado para neutralizar el ácido. Para determinar el porcentaje de ácido láctico se utiliza la siguiente ecuación (Ec. 4)

$$\% \text{ ácido láctico} = \frac{(V_{NaOH})(N_{NaOH})(Meq_{\text{ácido láctico}})}{V_{\text{alícuota}}} * 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:

V_{NaOH} = volumen gastado de NaOH [mL]

N_{NaOH} = normalidad de la solución de NaOH [0.1 N]

Meq = miliequivalentes de ácido láctico [0.09]

$V_{\text{alícuota}}$ = volumen de alícuota de solución de carne

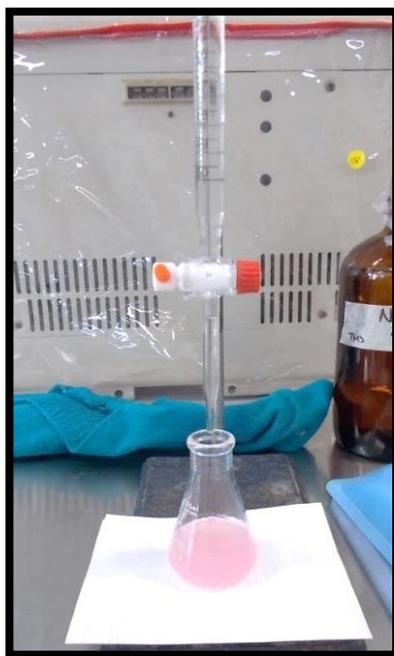


Figura 11. Titulación de las muestras para determinar porcentaje de ácido láctico

2.6.7. Capacidad de retención de agua

Para determinar la capacidad de retención de agua se empleó el método de compresión entre dos capas de metacrilato descrito por Honikel (1998). Se realizó con el texturómetro (Texture Analyzer CT3 Brookfield). Se utilizó la sonda TA4/1000, la cual es un cilindro de acrílico de 28.1 mm de diámetro y 20 mm de espesor. La prueba se llevó a cabo a una velocidad de 1 mm/s y una carga de activación de 0.5 N y valor meta de 70 N. La muestra (2 cm x 2 cm x 2cm) se colocó entre dos muestras de papel filtro (Figura 12a, página 45) a las que previamente se registró su peso. Al finalizar la prueba se vuelve a registrar el peso del papel filtro, para determinar la capacidad de retención de agua con la ecuación 5. La prueba se realizó 5 veces.

$$\% C. R. A. = \frac{m_1 H_1 - (m_2 - m_3)}{m_1 H_1} * 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

m_1 = masa de la muestra [g]

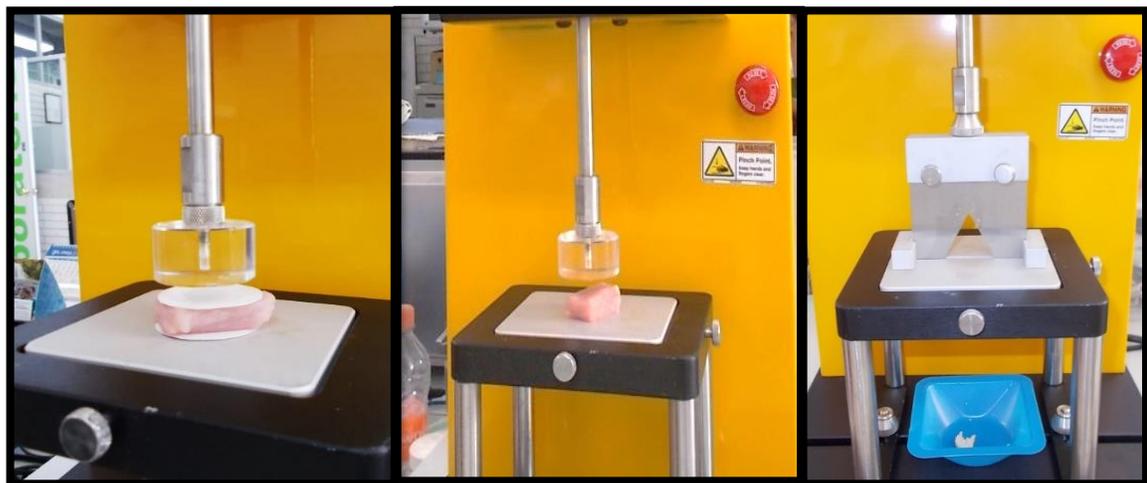
m_2 = masa del papel filtro húmedo [g]

m_3 = masa del papel filtro seco [g]

H = contenido en humedad de la muestra [g de H₂O/g de muestra]

2.6.8. Análisis de Perfil de Textura

Se utilizó el texturómetro Texture Analyzer CT3 Brookfield para determinar la firmeza de la carne, según las siguientes especificaciones: valor meta 5 mm, carga de activación 0.5 N, velocidad de prueba de 1 mm/s y dos ciclos con un tiempo de espera entre cada ciclo de 1 s. Se ocupó la sonda TA4/1000. La prueba se realizó 5 veces a cada nivel de variación, a muestras de carne de forma cúbica de 2 cm x 2 cm x 2 cm, ésta se colocó de tal manera que las fibras musculares estuvieran en paralelo a la sonda (Figura 12b).



a)

b)

c)

Figura 12. Pruebas de textura. a) Medición de capacidad de retención de agua con el método de compresión entre dos placas de metacrilato. b) Análisis de Perfil de Textura- c) Prueba de dureza con el método de Warner-Brätzler

2.6.9. Firmeza

Para determinar la dureza se utilizó el texturómetro Texture Analyzer CT3 Brookfield con la sonda Warner-Brätzler (Figura 12c), empleando la técnica esfuerzo de corte en cizalla Warner-Brätzler descrito por Honikel (1998). Cada muestra (5.5 cm largo x 2 cm de ancho x 2 cm espesor) fue pesada y cocida en horno durante 26 minutos hasta alcanzar una temperatura interna de 71 °C y puesta en refrigeración durante 24 h. Para la determinación de firmeza se colocó la muestra de manera que las fibras de la muestra estuvieran en paralelo a la sonda de corte, la velocidad de prueba fue de 2 mm/s con una carga de activación de 0.07 N y objetivo de 27 mm para cortar completamente la muestra. Se realizaron 5 réplicas.

2.6.10. Análisis microbiológico: coliformes totales

Para la determinación de coliformes totales en la carne envasada se siguió la metodología de la técnica del número más probable, descrita en la NOM-112-SSA1-1994. La técnica se basa en la determinación de presencia o ausencia en réplicas en diluciones consecutivas; las bacterias coliformes fermentan la lactosa incubadas a 35 ± 1 °C durante 24 a 48 h, resultando una producción de ácidos y gas, el cual se manifiesta en las campanas de fermentación de los tubos (Figura 13).

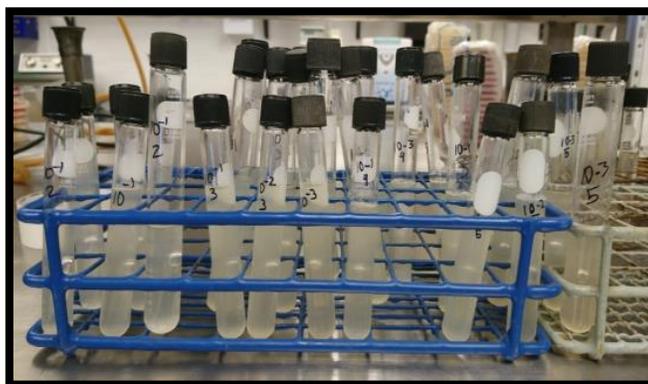


Figura 13. Prueba presuntiva en caldo lactosado de coliformes totales

Para la fase presuntiva se empleó caldo lauril sulfato sodio como medio y las muestras fueron incubadas a una temperatura de 35 °C por un periodo de 48 h, para aquellas pruebas en las que se observó la formación de burbuja en la campana de Durham, se procedió a realizarles la prueba confirmativa (Figura 14).



Figura 14. Prueba confirmativa caldo lauril sulfato sodio de coliformes totales

CAPÍTULO III. TRATAMIENTO Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1. Actividades preliminares

3.1.1. Acondicionamiento de la cámara de refrigeración

Para la conservación de la carne de cerdo, es importante mantener el control de la temperatura durante el almacenamiento, ya que ésta puede afectar considerablemente sus características de calidad y microbiológicas (Medi *et al.*, 2018). En la Figura 15 se muestra los cambios de temperatura registrados en la cámara de refrigeración. Se observan alteraciones en los últimos periodos de la curva, esto se atribuye a que muy probablemente la puerta de la cámara de refrigeración fue abierta. Para futuras experimentaciones se recomienda realizar esta prueba asegurándose que no se abra la puerta de la cámara en ninguna circunstancia. De las tres mediciones que se le realizaron a la cámara de refrigeración, se obtuvo un promedio de $0.8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Finalmente se ajustó el termostato de la cámara para así asegurar el almacenamiento del producto en condiciones adecuadas.

3.1.2. Determinación microorganismo, concentración del microorganismo a inocular y selección de antimicrobiano

Se realizaron pruebas de inhibición a los microorganismos mencionados, en el día 1 y 7 después de haber colocado los recubrimientos. De acuerdo con la cantidad de colonias que crecieron, el tamaño y la inhibición del crecimiento de estas, se

determinó que la bacteria *E. coli* fue la más sensible a cualquier tratamiento, ya que presentó menor crecimiento de colonias a comparación de las demás bacterias. El recubrimiento elaborado con nanocápsulas de aceite de romero fue el que presentó un mayor efecto antimicrobiano para cualquiera de las bacterias, especialmente para *E. coli*.

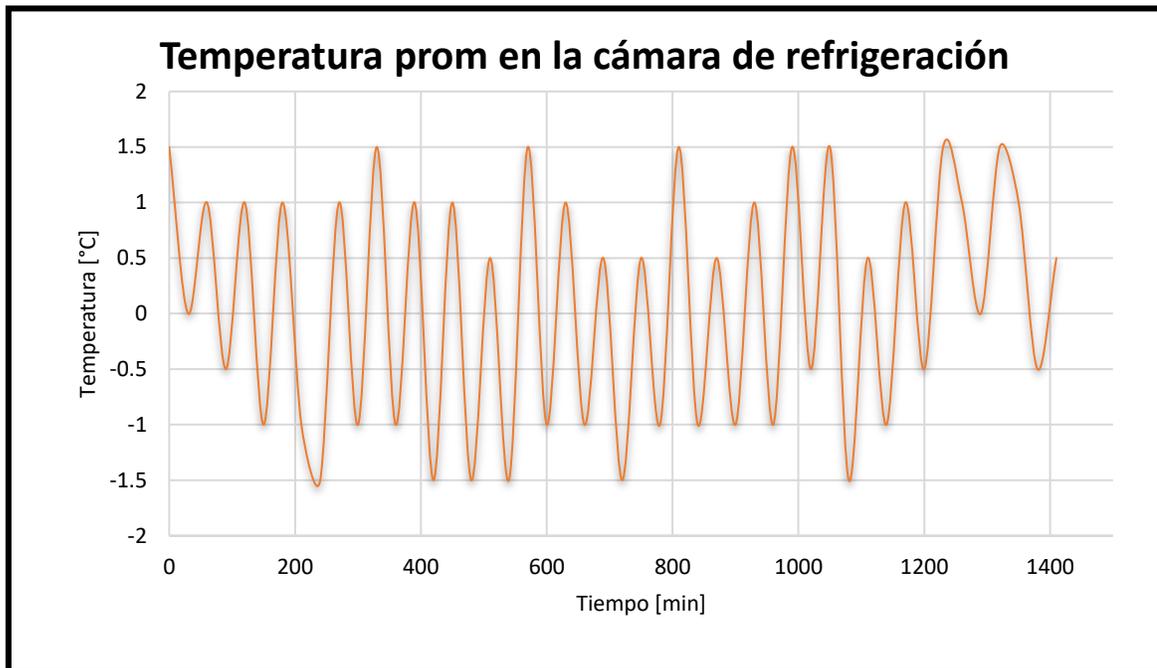


Figura 15. Cambios de temperatura y humedad relativa en la cámara de refrigeración

3.1.3. Curva de crecimiento de *E. coli*

En la Tabla 10 se registraron los resultados obtenidos de recuento microbiano durante cada hora de experimentación, observándose una disminución en la población bacteriana en el lomo de cerdo envasado con el recubrimiento que tiene 2 mL/L de aceite de romero, se determinó el porcentaje de inhibición en el crecimiento de la bacteria en la carne en contacto con el recubrimiento con respecto a aquella sin envasar. Se puede observar una disminución de crecimiento en la fase logarítmica de alrededor del 80 %, el mayor porcentaje de inhibición

(aproximadamente de 96 %) se presentó después de 2 h de incubación, se le atribuye al mayor tiempo de exposición de la bacteria a los elementos activos (aceite de romero) del recubrimiento, sin embargo esto no significa que al dejar más tiempo la carne expuesta al recubrimiento, este tendrá mayor efecto sobre las bacterias; este tiene un límite, ya que se observó que a partir de las 3 h el porcentaje de inhibición comenzó a disminuir, quedándose en un 86% después de 5 horas de incubación. Farbood *et al.* (1976) obtuvieron resultados similares, presentando una ligera inhibición de *E. coli* con un tratamiento de aceite al 1%; sin embargo, el efecto inhibidor fue mayor para bacterias gram positivas.

Tabla 10. *Unidades formadoras de colonias registradas en el lomo de cerdo con respecto al tiempo.*

Hora	Lomo de cerdo	Lomo de cerdo envasado	Porcentaje de inhibición
	UFC/mL 10^3	UFC/mL 10^3	
0	0.62	0.50	-
1	0.81	0.77	5.03
2	1.77	0.06	96.61
3	3.00	0.36	88.00
4	3.86	0.4	89.83
5	4.21	0.58	86.22

En la Figura 16 se observa la curva de crecimiento de la bacteria *E. coli*. Para el caso de la carne sin envase activo se observa una curva típica de crecimiento del microorganismo, después de 5 h aún se registra crecimiento de la bacteria, lo cual es esperado dado que la carne contiene los nutrientes necesarios para el desarrollo de la misma. Para el caso de la carne en contacto con el recubrimiento de aceite de romero del envase activo, se observa una disminución notable en la población bacteriana a partir de las 2 h, ya que disminuyó la población de 0.77×10^3 UFC/mL

hasta 0.66×10^2 UFC/mL, es decir, disminuyó en un logaritmo la población bacteriana en la superficie de la carne. A partir de las 3 h se vuelve a presentar un crecimiento en la población bacteriana, sin embargo, se observa que la velocidad de crecimiento es menor en comparación de la carne que no estuvo en contacto con aceite de romero.

A las 5 h se registró el crecimiento de 0.58×10^3 UFC/mL para el lomo de cerdo en envase activo, valor que es un logaritmo menor al registrado a la misma hora en el lomo de cerdo sin envasar.

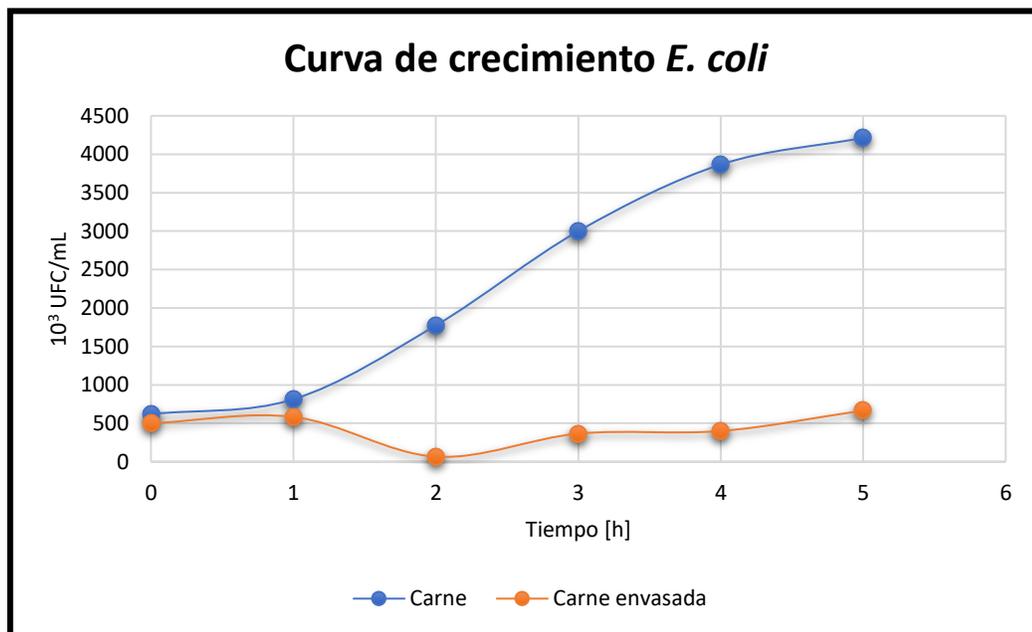


Figura 16. Curva de crecimiento de *E. coli* en carne fresca y carne en contacto con un envase activo.

La reducción en el crecimiento poblacional bacteriano se atribuye a las propiedades antimicrobianas de los terpenos que constituyen al aceite de romero. Debido a su carácter lipofílico, estas moléculas pueden penetrar a través de la membrana celular hasta llegar al citoplasma de la bacteria, comprometiendo la viabilidad de la bacteria (Sirocchi *et al.*, 2017). El recubrimiento en el envase activo demostró ser efectivo,

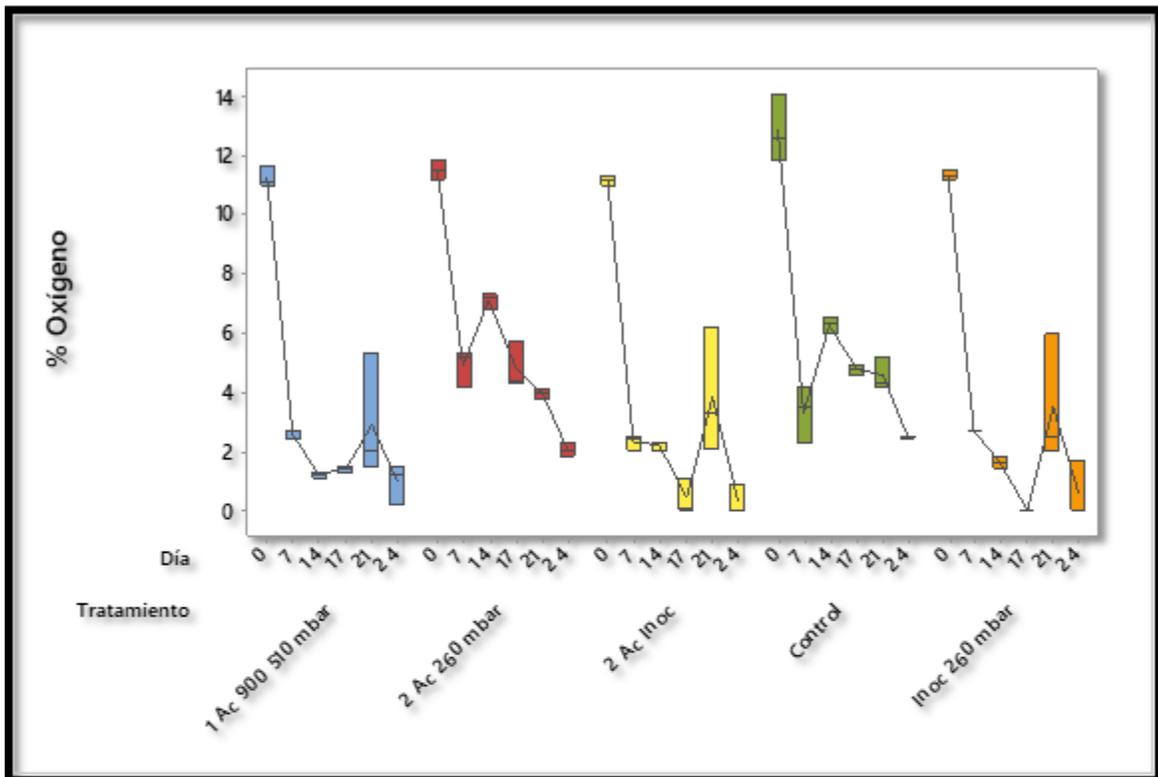
al observarse una disminución en un logaritmo en la fase exponencial de crecimiento y disminución notable en velocidad de crecimiento de la población bacteriana de *E. coli* en condiciones extremas que favorecieron el crecimiento de la bacteria (37 °C). El margen de protección es bastante amplio, ya que no se espera que el almacenamiento del producto llegue a esas condiciones extremas y sin embargo se logró una disminución en el crecimiento poblacional de la bacteria *E. coli*.

3.2 Actividades experimentales

3.2.1. Concentración de oxígeno y dióxido de carbono en el espacio libre de cabeza

La Figura 17 muestra los cambios en el porcentaje de concentración de oxígeno presente en el espacio de cabeza durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado en 5 distintos tratamientos. Se observa que para el día 0 existe una concentración más alta de lo normal en todos los envases, esto se atribuye a un error al momento de hacer la medición.

El comportamiento de la concentración de oxígeno muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en el factor de Inoculación, es decir aquellos envases que estaban inoculados con *E. coli* presentaron valores menores de concentración de oxígeno debido a la presencia del microorganismo, el cual es anaerobio facultativo, es decir que puede crecer en presencia y ausencia de oxígeno. El microorganismo consumió parte del oxígeno presente en el espacio de cabeza del envase, incluido en aquellos envases que se sellaron al vacío, dado que no fue un completo vacío para evitar dañar la estructura de la carne y así afectar sus propiedades texturales, quedó oxígeno residual en el espacio de cabeza, posteriormente consumido por microorganismos.



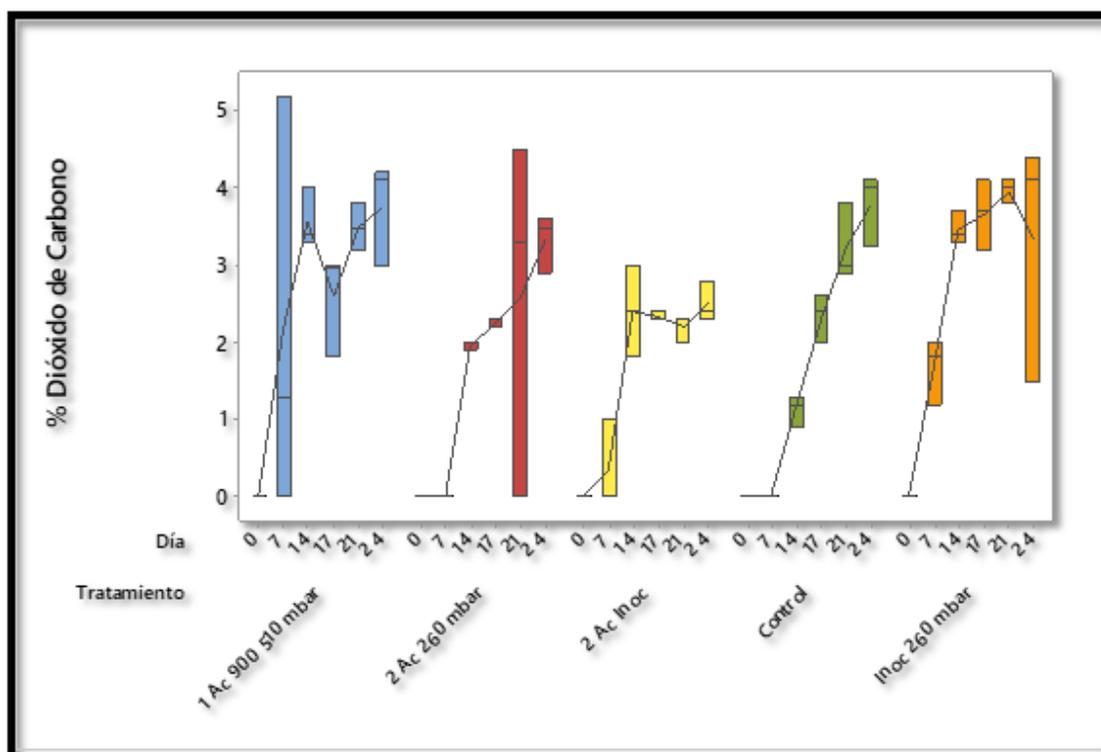
Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 17. Concentración de Oxígeno en el espacio de cabeza

En la Figura 18 (página 53) se muestra el porcentaje de producción de CO₂ en el espacio de cabeza con respecto al tiempo de almacenamiento, demostrando que aumentó la producción de CO₂ con respecto al tiempo de almacenamiento, resaltando que existen diferencias significativas con respecto a los tratamientos que están envasados a vacío ($p < 0.05$). El envasado a vacío además de reducir el espacio de cabeza favorece a liberación del jugo de la carne, el CO₂ es absorbido

en la fracción lipídica y en el agua liberada del lomo de cerdo de la carne (Boskovic *et al.*, 2017) por lo que no se presentó abombamiento en los envases ni gran incremento en la concentración del gas.



Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 18. Producción de Dióxido de Carbono en el espacio de cabeza.

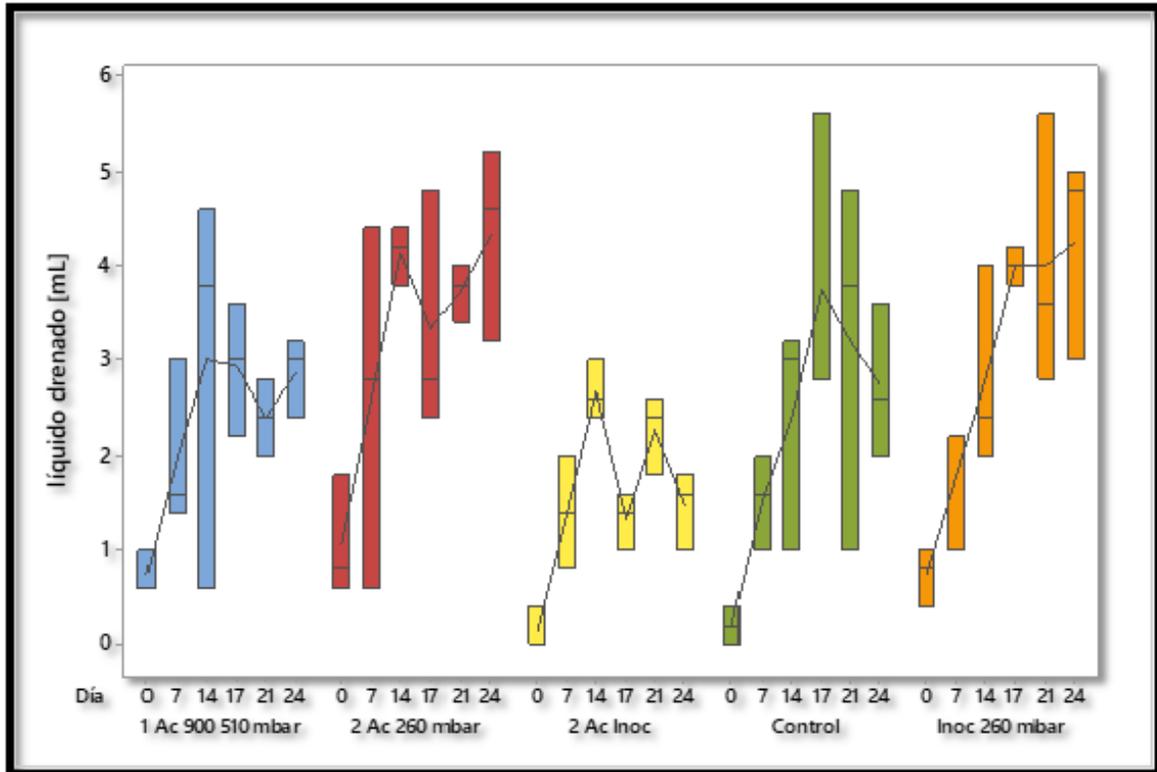
Se observa que, para aquellos tratamientos sin inocular, no hubo producción de CO₂ hasta el día catorce, presentando valores entre 1 y 2 %, para los tratamientos

inoculados, a partir del día 7 se observó producción de CO₂ de entre 2.4 y 3.6 %, atribuyendo esto a la presencia de *E. coli*, bacteria que, al fermentar el glucógeno, produce CO₂.

3.2.2. Líquido drenado

El líquido drenado se refiere a la acumulación de una solución acuosa roja de proteínas en carne refrigerada y empaquetada. Es una variable importante relacionada con la rentabilidad y calidad de los productos cárnicos frescos tanto para la industria como los consumidores (Zhu *et al.*, 2017). El líquido drenado parece ser dependiente del estado de contracción (sarcómeros contraídos, fibrillas o fibras musculares) después de la instauración del rigor y es debido a la reducción del espacio filamental, cambios en la membrana celular (fenómenos osmóticos y cambios en la permeabilidad), que resulta en una liberación del agua en el espacio extracelular, en definitiva el rigor (contracción) actuaría exprimiendo el músculo (Honikel, 1998).

El registro de la cantidad de líquido drenado del lomo de cerdo envasado en 5 diferentes tratamientos almacenados a 0 °C, se observa en la Figura 19 (página 55). Para los diferentes tratamientos se encontró que existen diferencias significativas para aquellos que estaban envasados al vacío ($p < 0.05$), mostrando los valores más altos de líquido drenado (3.7 – 4.4 mL en la última semana), esto se debe a que el vacío promueve la liberación de jugos en la carne que se acumulan en los pliegues superficiales de la misma creados por el envase que la envuelve (Li *et al.*, 2012).



Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

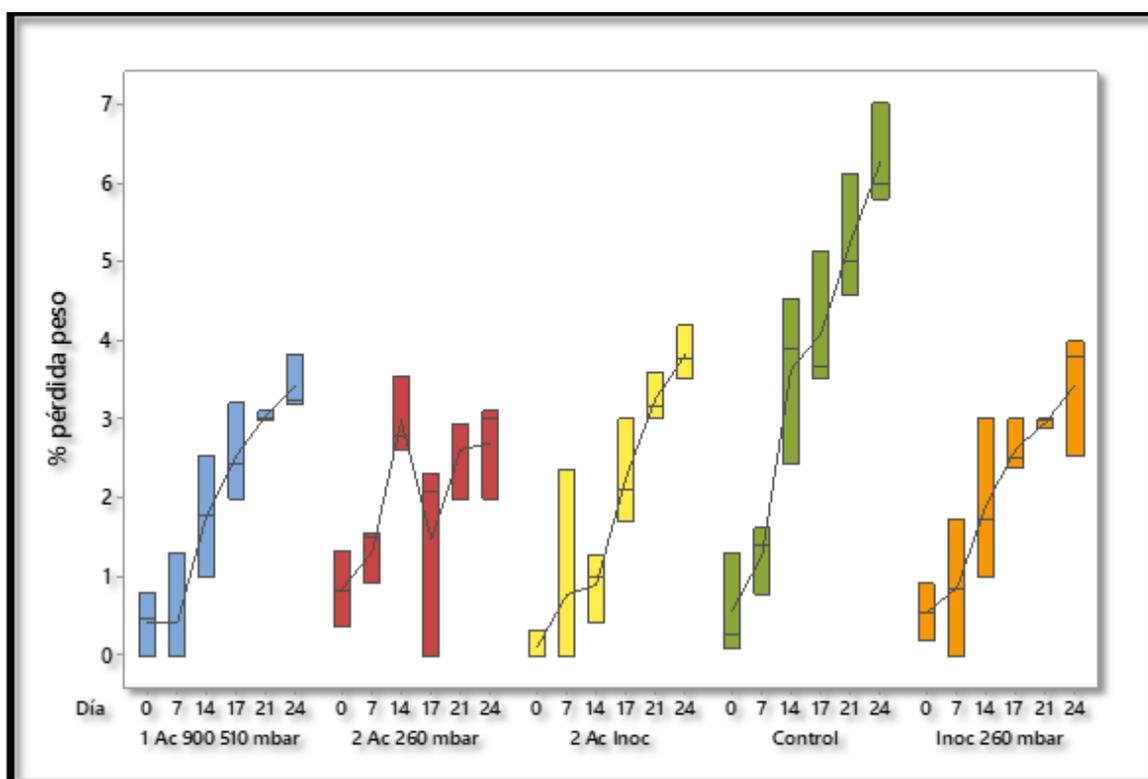
Figura 19. Líquido drenado del lomo de cerdo envasado.

3.2.3. Porcentaje de pérdida de peso

La pérdida de peso es un parámetro importante en la producción y venta de carne, ya que tiene un gran impacto económico en ellos.

En la Figura 20 se observan los cambios de porcentaje de pérdida de peso en el lomo de cerdo envasado con diferentes tratamientos, almacenado a 0 °C. Con relación al porcentaje de pérdida de peso, se determinó que existen diferencias

significativas en los tratamientos con aceite e inoculados. Se observó una mayor pérdida de peso con respecto al tiempo, en especial para el control y los lotes que estaban inoculados, presentando valores de 6.2 % el control y los inoculados entre 3.4 y 3.8 % para el día 24. Aquellos lotes con tratamiento con aceite de romero presentaron los menores valores de pérdida de peso al día 24 (no mayores a 3%).



Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 20. Determinación de la pérdida de peso durante el almacenamiento del lomo de cerdo.

El porcentaje de pérdida de peso está ligado directamente a la cantidad de líquido drenado en cada envase, dicha relación se observa claramente en el lote control, en el que a medida que aumentaba el tiempo de almacenamiento, aumentó la cantidad de líquido drenado y consecuentemente la pérdida de peso, esto se atribuye principalmente a la degradación de proteínas miofibrilares, lo que provoca el aumento del espacio extracelular (Offer & Cousins, 1992). En el tejido muscular vivo hay muy poco espacio extracelular, la separación de las fibras musculares se produce después de la muerte. El movimiento de agua desde el espacio extracelular que permite la migración del agua a la superficie de la carne depende de la longitud de formación de estos canales, que a su vez depende del nivel de degradación de varias proteínas musculares (Hughes *et al.*, 2014).

3.2.4. Color

Se considera que el color de la carne fresca es el atributo sensorial más importante de calidad del producto, ya que los consumidores utilizan el nivel de decoloración como un indicador de frescura y salubridad (Jeremiah, 2001).

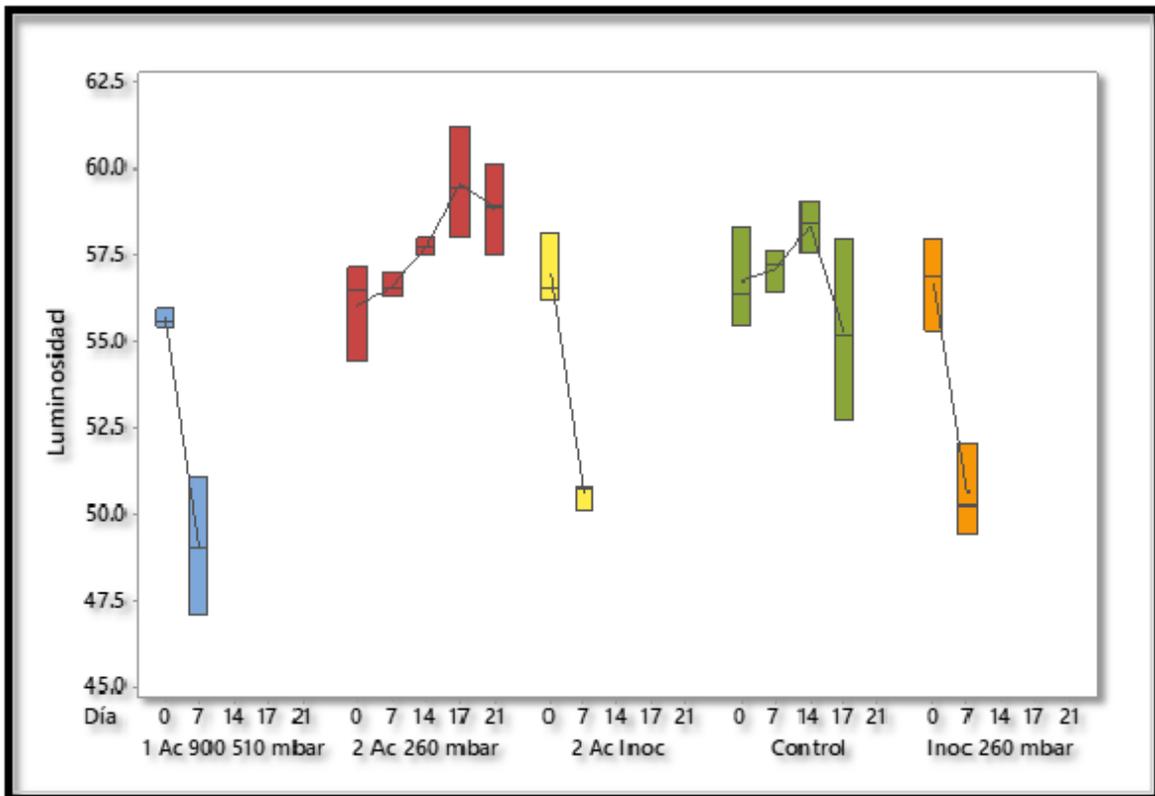
El color en la carne de cerdo depende en gran medida de la cantidad de mioglobina y del contenido en su forma oxigenada (Oximioglobina MbO₂), la forma oxidada (metamioglobina MetMb) y la forma reducida (Deoximioglobina Mb)(Karamucki *et al.*, 2013).

Es importante mencionar que para los lotes inoculados sólo se les determinó el color el día 0 y día 7, dado que el día 7 ya presentaban un olor bastante desagradable, atribuido principalmente a la presencia de *E. coli* que aceleró la descomposición del lomo de cerdo envasado a estas condiciones. El lote control fue muestreado hasta el día 17, día en el que mostró ya un olor insoportable. El tratamiento 2 Ac 260 mbar fue muestreado hasta el día 21 por las razones ya mencionadas.

a) Luminosidad

La luminosidad se correlaciona al estado físico de la carne, debido al pH del músculo, a la estructura de las fibras musculares y a la cinética implicada para establecer el *rigor mortis* (Braña Varela *et al.*, 2011). La luminosidad generalmente incrementa en la carne y productos cárnicos almacenados en refrigeración atribuido probablemente a la oxidación de la carne (Bingol & Ergun, 2011). La Figura 21 (página 59) muestra el comportamiento de la luminosidad en función a la composición del envase activo y a la inoculación de *E. coli*, mostrando que sobre todo en las muestras inoculadas presentan una mayor pérdida de luminosidad con respecto al tiempo, sin embargo se resalta que el lote envasado al vacío de 260 mbar y 2 g/L de aceite de romero nanoencapsulado mostró un incremento en la Luminosidad durante el tiempo de almacenamiento hasta el día 17 para permanecer sin variación hasta el final del almacenamiento, lo que implica que durante este tiempo el producto se estabilizó. Se observó un comportamiento parecido en el lote control, en donde los valores de Luminosidad incrementaron ligeramente hasta el día 14.

El día 0 todos los lotes de los 5 tratamientos diferentes presentaron valores similares de luminosidad de ≈ 56 , estos resultados coinciden con los reportados por Karamucki *et al.* (2013). Para el día 7, se observó una notable disminución en los lotes inoculados, mostrando valores de 49 – 52.5. Para los tratamientos Control y 2 Ac 260 mbar se registraron valores de L^* de 56-57.5 durante el almacenamiento. Los resultados coinciden con los reportados por Sirocchi *et al.*, (2017) en donde los valores de L^* para condiciones de vacío incrementaron ligeramente y durante los primeros 5 días se obtuvieron valores de L^* mayores para las muestras sin envasado activo (control), atribuido a la acumulación de agua, expulsada naturalmente por las proteínas, en la superficie de la carne.



Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 21. Luminosidad de los distintos tratamientos del lomo de cerdo envasado.

En la Figura 22, se muestra el diagrama de Pareto obtenido del análisis del diseño factorial fraccionado propuesto, observándose que el hecho de inocular las muestras contribuyó significativamente en los cambios de luminosidad de la carne debido al crecimiento y generación de metabolitos por parte de *E. coli*.

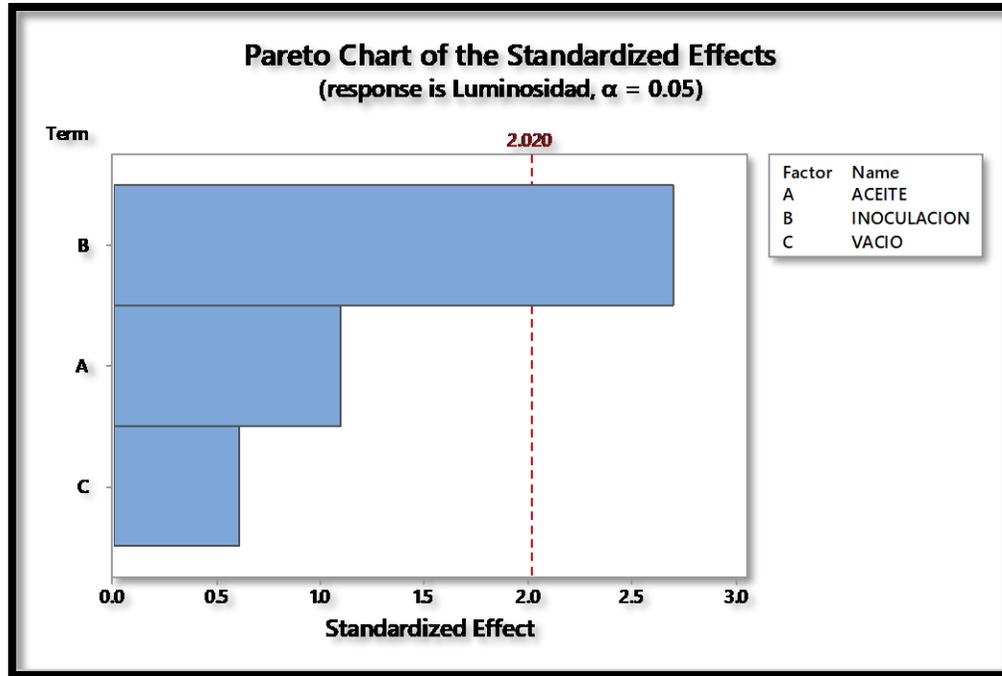


Figura 22. Diagrama de Pareto para Luminosidad

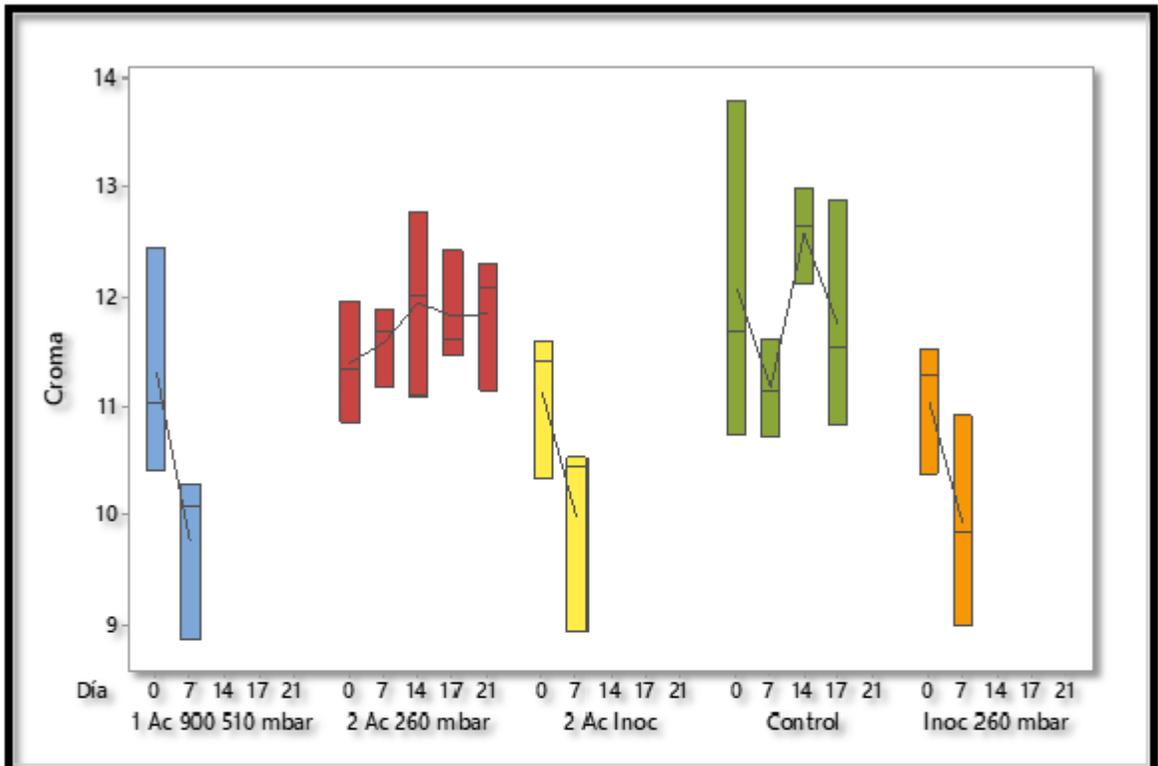
Al realizar el análisis estadístico se determinó que existen diferencias significativas para aquellos lotes inoculados ($p < 0.05$). Se observó el mismo comportamiento en los valores de Cromaticidad y $^{\circ}$ Hue.

b) Cromaticidad

El croma se utiliza para determinar el grado de diferencia de un color en comparación a un gris con la misma claridad, considerado un atributo cuantitativo de visualización de la intensidad de un color (González-Hurtado *et al.*, 2014). El croma se relaciona con la concentración de mioglobina, que influye directamente en la saturación del color del músculo.

Los valores correspondientes a la cromaticidad de los diferentes tratamientos de lomo de cerdo envasado refrigerado a 0°C se muestran en la Figura 23. Al realizar el análisis estadístico se determinó que para los tratamientos con inoculación de *E. coli* presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Se determinaron valores de

Croma menores a aquellos que no estaban inoculados, una vez más eso se le atribuye al hecho de comprar la carne en días diferentes.



Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 23 Cromaticidad de los diferentes tratamientos del lomo de cerdo envasado.

Los resultados obtenidos de Croma coinciden con los reportados por González-Hurtado *et al.* (2014); ya que se observó que los valores de Croma disminuyeron con el paso del tiempo de almacenamiento (con excepción del lote 2 Ac 260 mbar), esto se atribuye principalmente a la formación de Metamioglobina, lo que oscureció al corte de lomo de cerdo, al observar una disminución en los valores de a^* .

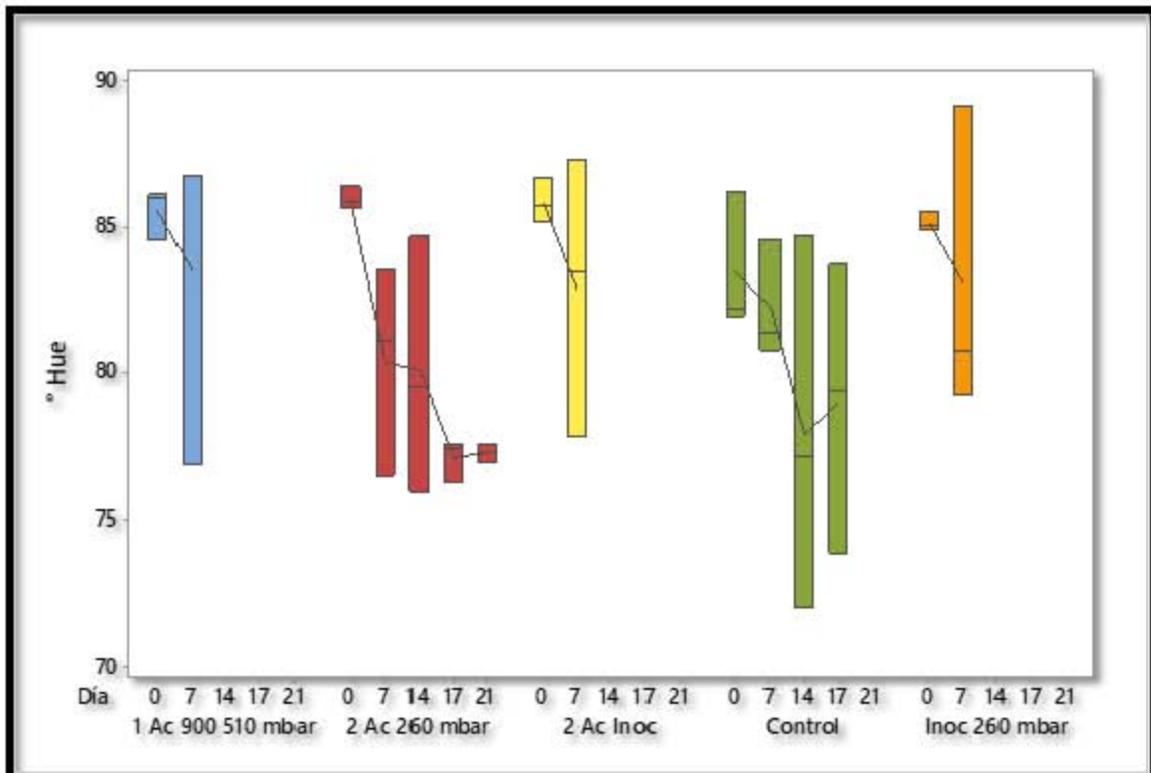
Como se ha reportado en la literatura, existen compuestos antioxidantes en el aceite esencial de romero, los cuales protegen a la mioglobina de oxidarse y evitar la formación de metamioglobina, lo que provoca la reducción de los valores de a^* (Nerin *et al.*, 2006). Se observó en el lote 2 Ac 260 mbar que tanto los valores de Croma como de a^* aumentaron ligeramente hasta el día 14 (de 11.58 hasta 11.95, a partir de ahí fue disminuyendo hasta 11.84), este comportamiento coincide con lo reportado por Lorenzo & Gómez (2012). El uso de nanocápsulas de aceite de romero sobre el envase ayudó a preservar durante más tiempo las condiciones de color del lomo de cerdo envasado a 260 mbar, ya que fue el tratamiento que presentó menor variación en los datos obtenidos.

c) Ángulo de tono

Es el atributo que ubica el color en los tonos tradicionalmente definidos como, por ejemplo, en el caso especial de la carne, el rojizo y verdoso; este atributo está relacionado con las diferencias de absorbancia a diferentes longitudes de onda en el espectro visible (Antonio *et al.*, 2005). El tono es determinado por el estado químico del pigmento de mayor concentración, que en este caso es la mioglobina.

Los valores del ángulo de tono en los diferentes tratamientos de lomo de cerdo envasado se muestran en la Figura 24. Se observó que para los tratamientos inoculados presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto a los demás, se observó que en 7 días los valores de los lotes con este tratamiento disminuyeron de ≈ 85 a valores entre 80 – 83.5. Para el caso del tratamiento que contiene nanocápsulas de aceite de romero, 2 Ac 260 mbar y el tratamiento control también se observa una disminución en los valores de ángulo de tono, presentando

valores entre 83 (control) y 86 (2 Ac 260 mbar) el día 0, los cuales disminuyeron hasta 79 para el tratamiento control y a 77 para el tratamiento 2 Ac 260 mbar. Bingol & Ergun (2011) encontraron de igual manera que el ángulo de tono disminuyó con respecto al tiempo de almacenamiento.



Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 24. Ángulo de tono en los diferentes tratamientos en el lomo de cerdo envasado.

3.2.5. pH

El pH es un parámetro de gran importancia en la industria cárnica, ya que ayuda a diferenciar la calidad de la carne. El pH está significativamente correlacionado a atributos como el color y la capacidad de retención de agua, los cuales son características muy importantes que influyen en la decisión de compra del consumidor (Holmer *et al.*, 2009).

En la Figura 25 (página 65) se observan los cambios que presentó el lomo de cerdo envasado con 5 tratamientos, durante su almacenamiento a 0 °C. Al realizar el análisis estadístico se determinó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), Se puede observar el efecto estadístico en la Figura 26 (página 66).

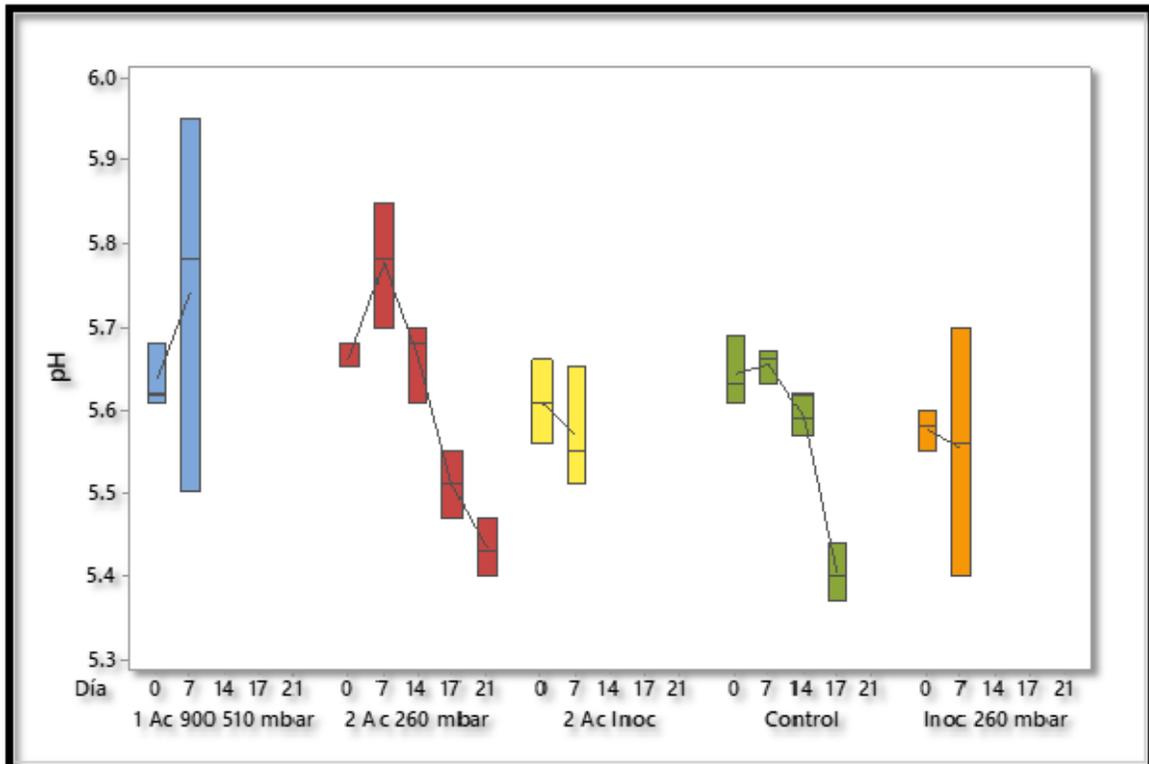
Al igual que el color, no se evaluó el pH ni el porcentaje de ácido láctico presente en aquellas muestras inoculadas, debido al mal olor que presentaron desde el día 7 debido a la presencia de la bacteria *E. coli*, la cual aceleró el proceso de descomposición del producto.

Se observa que para el tratamiento 2Ac 260 mbar hubo un incremento en el pH durante los primeros días, esto coincide con lo reportado por González-Hurtado *et al.*, (2014), Franco *et al.*, (2011) y Holmer *et al.*, (2009), el incremento de pH se atribuye a la degradación de proteínas lo que lleva a la producción de aminoácidos libres que conducen a la formación de NH_3 y de aminas, compuestos de reacción alcalina (Karabagias *et al.*, 2011).

A partir del día 14 se observó una ligera disminución en los valores de pH en los tratamientos evaluados, atribuido a la posible producción de ácido láctico por la presencia de bacterias ácido-lácticas y la disolución de CO_2 en la fase acuosa de la carne (Leygonie *et al.*, 2011).

Bingol & Ergun (2011) observaron el mismo comportamiento en el pH en la carne de avestruz envasada en diferentes atmósferas, atribuyéndolo de igual manera a la

degradación del glucógeno y producción de ácido láctico por presencia de bacterias ácido-lácticas.



Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 25. Cambios de pH durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado.

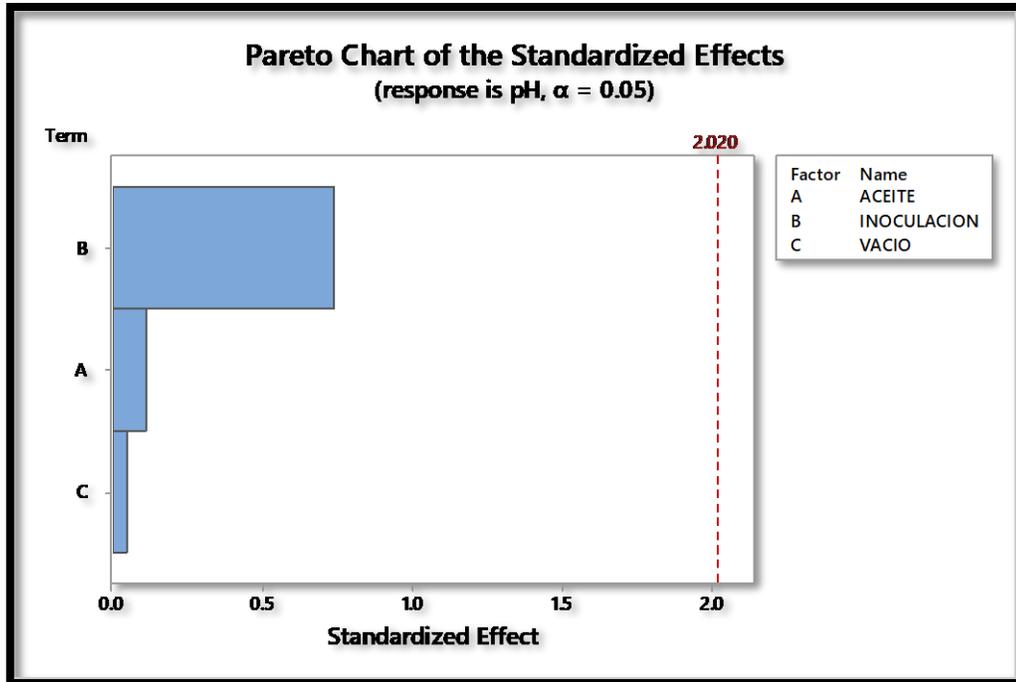


Figura 26. Diagrama de Pareto para el pH.

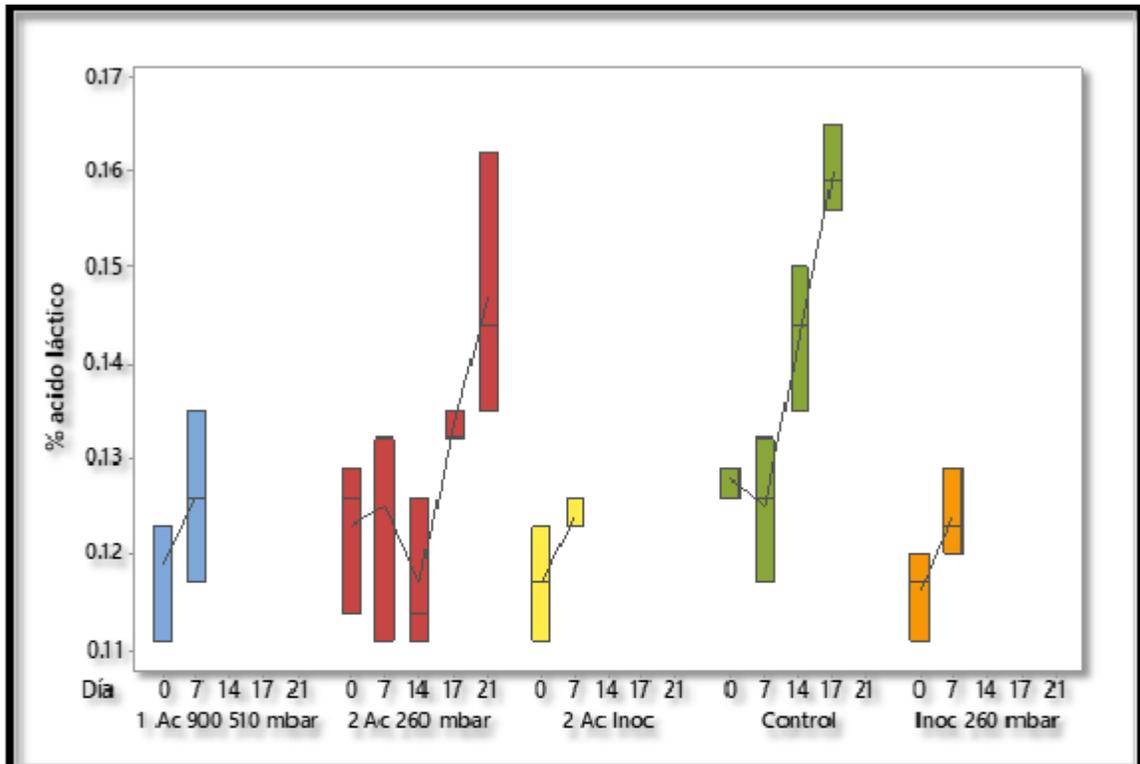
3.2.6. Porcentaje de ácido láctico

El ácido láctico se encuentra de manera natural en el músculo del animal. Al morir el animal, el glucógeno presente en el músculo se degrada a glucosa y por vía anaerobia éste produce piruvato el cual se transforma en lactato y posteriormente produce ácido láctico.

En la Figura 27 se presentan los cambios en el porcentaje de ácido láctico presente durante el almacenamiento a 0 °C de lomo de cerdo envasado en 5 tratamientos diferentes. Al realizar el análisis estadístico se determinó que no existen diferencias significativas entre los distintos tratamientos ($p < 0.05$).

Se observa una tendencia general en todos los tratamientos de un aumento en el porcentaje de ácido láctico presente con respecto al tiempo de almacenamiento, este comportamiento coincide con el reportado por Simpson *et al.* (1994), el

aumento de ácido láctico presente se debe a la producción de este por bacterias ácido-lácticas presentes en la carne.



Notas:

- o 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- o 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- o 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- o Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- o Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 27. Cambios en el porcentaje de ácido láctico presente durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado.

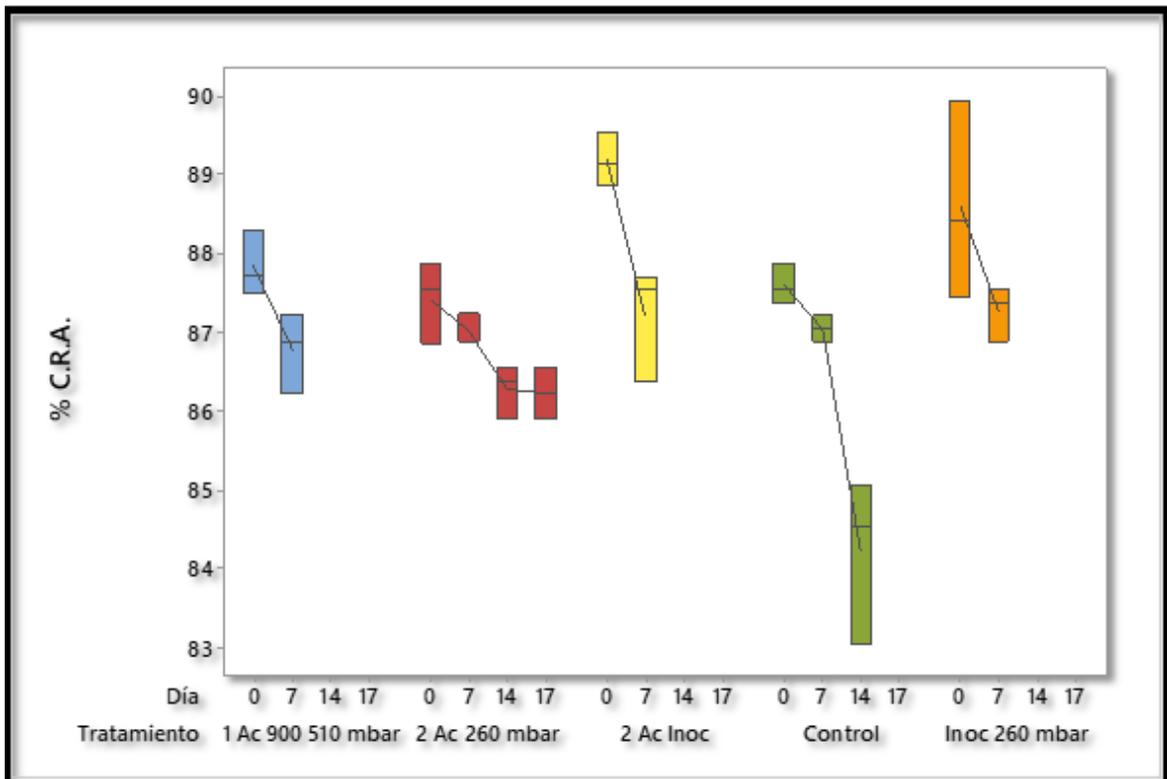
3.2.7. Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (C.R.A.) está definida como la propiedad de la carne fresca de retener su propia agua durante el corte, calentamiento, trituración, prensado, transporte, almacenamiento y cocción (Pearce *et al.*, 2011). El agua contenida en la carne aparte de tener un papel importante en la estructura del músculo permitiendo la difusión e interacción de sustratos y enzimas, también determina la plasticidad, rigidez y gelatinización de las proteínas insolubles, por lo que la capacidad de retención de agua no sólo es importante para la aceptación visual y sensorial del producto final, sino que también toma un papel importante en la formación del músculo y consecuentemente afecta la calidad del mismo (Hughes *et al.*, 2014).

Debido al mal olor y descomposición que presentaron desde el día 7 los lotes inoculados, a causa de la presencia de la bacteria *E. coli*, no se les realizaron las pruebas tanto de capacidad de retención de agua, análisis de perfil de textura ni firmeza.

En la Figura 28 se presentan los cambios en el porcentaje de capacidad de retención de agua durante el almacenamiento a 0 °C de lomo de cerdo envasado en 5 diferentes tratamientos. Se determinó que existen diferencias significativas para los lotes que presentan inoculación ($p < 0.05$). Se observa una ligera disminución de la capacidad de retención de agua con respecto al tiempo, esto se atribuye a que las proteínas del músculo de la carne han comenzado a desnaturalizarse, favoreciendo así la liberación de agua del tejido al aplicarle una fuerza externa (Fuentes-López *et al.*, 2012). En el lote 2 Ac 260 mbar no se observó una disminución estadísticamente significativa, lo que se atribuye al hecho de que el agua fue liberada al momento de envasar al vacío el lomo de cerdo. El lote control presenta mayor diferencia en la disminución de C.R.A. con respecto al tiempo, al no estar envasado en una atmósfera modificada y no tener recubrimiento, se atribuye a la degradación de las proteínas citoesqueléticas, lo que provoca un mayor

encogimiento mayor de la célula muscular en general (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005).



Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 28. Cambios en la capacidad de retención de agua durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado.

3.2.8. Análisis de perfil de textura

La dureza determinada durante el primer ciclo representa la fuerza que se requeriría durante la primera mordida y la dureza del segundo ciclo corresponde a la fuerza necesaria para alcanzar un determinado grado de deformación (Alende *et al.*, 2014).

En la Figura 29 se observan los cambios en la dureza correspondiente al primer ciclo en el APT durante el almacenamiento a 0 °C de lomo de cerdo envasado en 5 diferentes tratamientos y la Figura 30 (página 72) representa los cambios en la dureza correspondiente al segundo ciclo en el ATP. Para la dureza del ciclo 1 no se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el análisis estadístico, sin embargo para la dureza en el ciclo 2 se observó que existen diferencias significativas para los tratamientos que están inoculados.

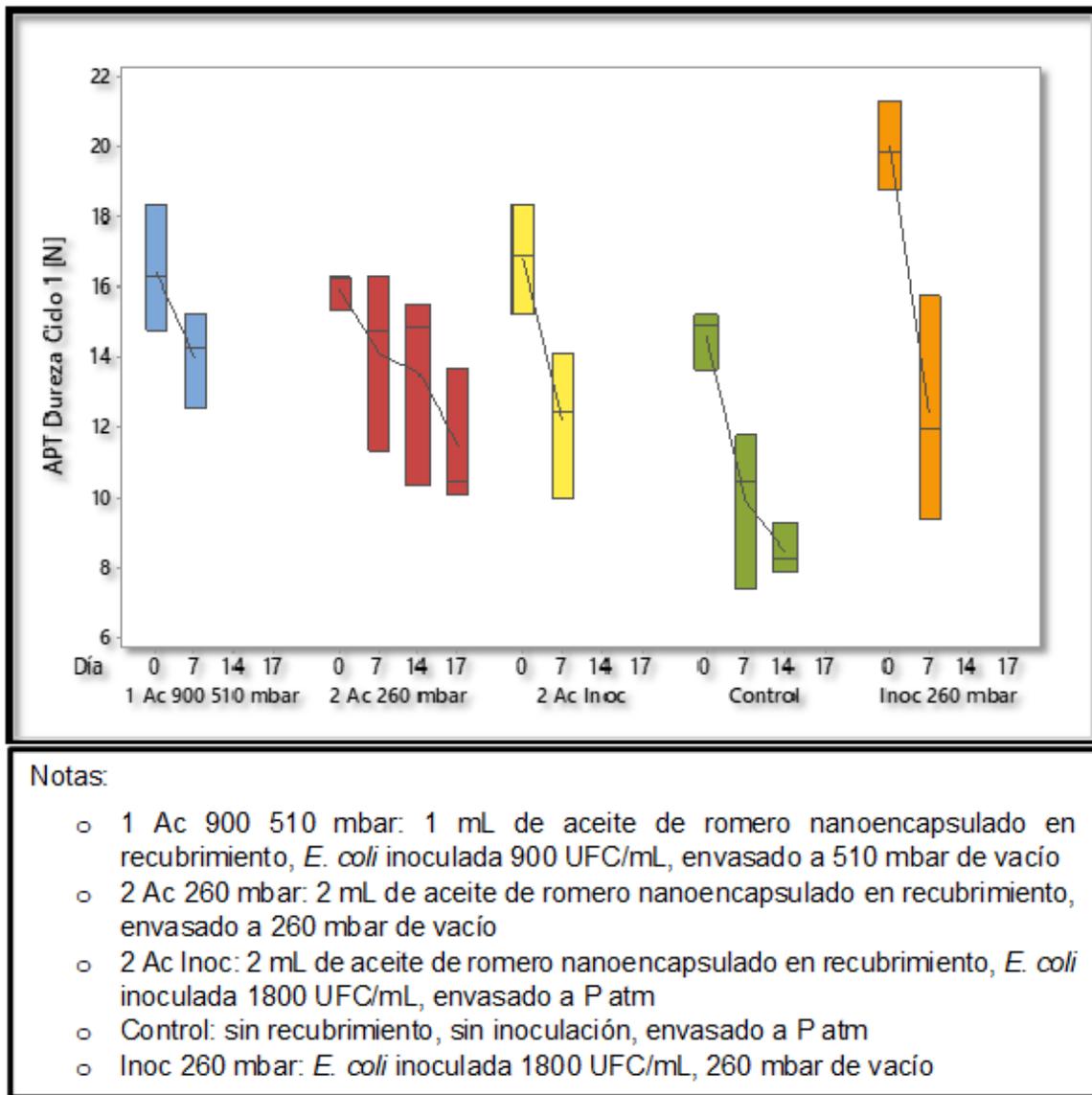
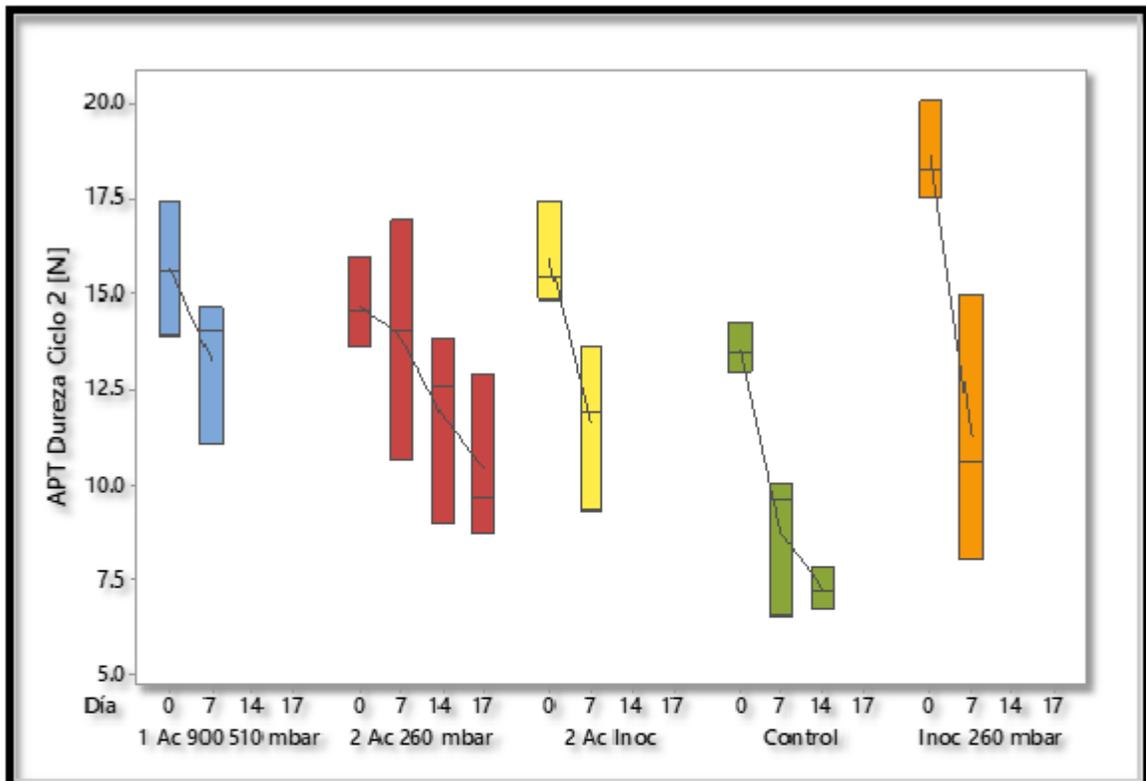


Figura 29. Cambios en la dureza correspondiente al primer ciclo en el APT durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado.

Como se ha mencionado anteriormente, solamente se realizaron pruebas de textura el día 0 y día 7 a los envases inoculados, debido al fuerte olor desagradable que presentaron las muestras. Al lote control se le hicieron pruebas de textura hasta el día 14 y al lote con tratamiento 2 Ac 260 mbar se le hizo pruebas de textura hasta el día 17 por las razones mencionadas anteriormente.



Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 30. Cambios en la dureza correspondiente al segundo ciclo en el APT durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado.

Para ambos casos (ciclo 1 y ciclo 2) se observa en todos los tratamientos la disminución de dureza con respecto al tiempo, esto se debe principalmente a la degradación de las proteínas miofibrilares de la carne. Se observa que, con el paso del tiempo, la diferencia de dureza del ciclo 1 y 2 es mayor, esto quiere decir que la muestra fue perdiendo su capacidad de recuperación tras ser sometida a una fuerza.

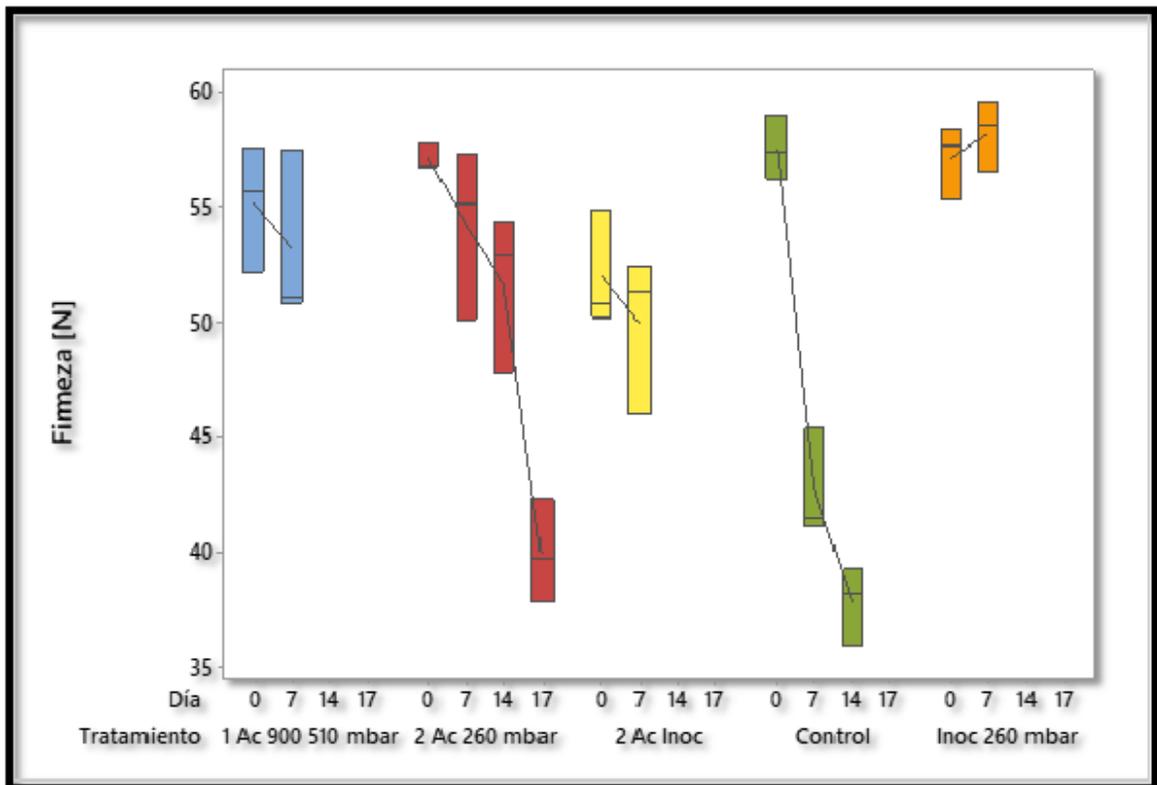
Taylor *et al.* (1995) reportaron altos valores de índice de fragmentación miofibrilar con respecto al tiempo lo que indica un mayor grado de proteólisis, atribuyendo así la disminución de dureza en la carne con respecto al tiempo; se deduce entonces que la presencia de *E. coli* favoreció la rápida desnaturalización de dichas proteínas, por lo que se observan grandes diferencias en la dureza del día 0 al día 7 en estos tratamientos, presentando la diferencia más grande el tratamiento Inoc 260 mbar, notándose en menor medida en el tratamiento 1 Ac 900 510 mbar; se observa también que hubo una ligera disminución en los valores de dureza para el tratamiento 2 Ac 260 mbar, deduciendo que el uso de nanopartículas de aceite de romero ayuda a preservar por más tiempo la dureza en la carne.

3.2.9. Firmeza

La firmeza es generalmente considerada por los consumidores como uno de los atributos más importantes de calidad de la carne (Strydom & Hope-Jones, 2014).

La firmeza se midió empleando el método de Warner-Brätzler, el cual realiza una medida de la fuerza máxima de corte ejercida durante la ruptura completa de una muestra. El cizallamiento se realiza perpendicularmente a las fibras con ayuda de una cuchilla que se desliza a velocidad constante por un motor eléctrico.

Para todos los tratamientos se observa en la Figura 31 que los valores de firmeza disminuyen con respecto al tiempo, en general esta tendencia coincide con los datos presentados previamente para el almacenamiento de carne de cerdo, en la que se produce una marcada disminución de los valores en la fuerza de corte de W-B durante las primeras semanas de almacenamiento (Juárez *et al.*, 2011).



Notas:

- 1 Ac 900 510 mbar: 1 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 900 UFC/mL, envasado a 510 mbar de vacío
- 2 Ac 260 mbar: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, envasado a 260 mbar de vacío
- 2 Ac Inoc: 2 mL de aceite de romero nanoencapsulado en recubrimiento, *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, envasado a P atm
- Control: sin recubrimiento, sin inoculación, envasado a P atm
- Inoc 260 mbar: *E. coli* inoculada 1800 UFC/mL, 260 mbar de vacío

Figura 31. Cambios en la firmeza durante el almacenamiento de lomo de cerdo envasado.

Al realizar un análisis estadístico se observó que existen diferencias significativas en los tratamientos que están inoculados ($p > 0.05$); la reducción de los valores en la firmeza con respecto al tiempo se debe al envejecimiento de la carne, esto provocado a fenómenos proteolíticos que conducen a una alteración en la estructura miofibrilar, al haber presencia de microorganismos, los lotes inoculados sufrieron una pérdida más rápida de firmeza debido a una proteólisis enzimática y también por presencia de microorganismos. Los principales sistemas enzimáticos involucrados en la proteólisis post-mortem son la calpaína y catepsina (Koochmaraie *et al.*, 1991). Las dos enzimas van actuando en el ablandamiento de la carne, Zeece *et al.* (1986) observó que se hallan involucradas en la disminución de las proteínas citoesqueléticas (titina y nebulina); las dos se van haciendo más inestables con el almacenamiento, afectando así la terneza de la carne.

3.2.10. Análisis microbiológico: coliformes totales

El crecimiento microbiano, es la principal causa del deterioro de la carne almacenada en refrigeración; el tipo y número de microorganismos, son factores importantes que inciden en la velocidad de alteración del producto (Hendrick *et al.*, 2001).

En la Tabla 11 se muestran los resultados de las pruebas microbiológicas correspondientes a coliformes fecales. Se realizó el seguimiento durante 4 semanas. Como era de esperarse, la población bacteriana aumentó con respecto al tiempo, sin importar el tratamiento.

En la primera semana, el tratamiento 2 Ac 260 mbar presentó el menor número de bacterias coliformes (93 Número Más Probable) en comparación con los demás tratamientos. Aquel que también tiene recubrimiento 2 Ac Inoc también presentó un menor número de coliformes totales (290 NMP), esto se le atribuye a recubrimiento

con aceite esencial de romero, que como se mencionó en el apartado 3.1.3., el aceite esencial de romero posee compuestos con la capacidad de penetrar en la membrana celular de las bacterias, razón por la cual se observa una disminución en el crecimiento de la población bacteriana. En la segunda semana, el tratamiento 2 Ac 260 mbar aumentó su NMP de coliformes totales de 93 hasta 150 y el tratamiento 2 Ac Inoc de 290 hasta 1100 NMP, demostrando así que, si bien las nanocápsulas de aceite de romero no inhiben totalmente el crecimiento de las bacterias coliformes, sí disminuyen notablemente su crecimiento. Para los demás tratamientos, a partir de la segunda semana se registró un conteo mayor a 1100 NMP. Tanto *E. coli* como demás bacterias coliformes pueden crecer en condiciones anaerobias.

Tabla 11. *Resultados de pruebas microbiológicas: coliformes totales. Técnica del número más probable*

Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
Control	>1100	>1100	>1100	>1100
2 Ac 260 mbar	93	150	>1100	>1100
Inoc 260 mbar	>1100	>1100	>1100	>1100
2 Ac Inoc	290	1100	>1100	>1100
1 Ac 900 510 mbar	1100	>1100	>1100	>1100

Sirocchi *et al.* (2013) demostraron que concentraciones de aceite de romero al 0.1%, 1% y 2% presentan escasa actividad microbiana e inhibición en el crecimiento de aminos biogénicas en la carne. En el caso de esta experimentación, el tratamiento que presenta una concentración de 1 % de aceite de romero (1 Ac 900 510 mbar)

no presentó una disminución en la actividad microbiana, esto se atribuye a la carga bacteriana que se inoculó al principio de la experimentación. Sin embargo, se observa que para los tratamientos en los que se existe una concentración al 2% de aceite de romero sí existe una disminución en el conteo de colonias de bacterias coliformes. Demostrando así que la concentración al 2% funge como bacterioestático durante al menos 2 semanas.

En un posterior estudio. Sirocchi et al., (2017) concluyeron que la combinación de aceite de romero con diferentes tecnologías de envasado ayuda a disminuir el crecimiento microbiológico durante al menos 10 días, además de que favorece la conservación de propiedades como el color de la carne.

Como se demostró en la construcción de la curva de crecimiento de *E. coli* y de acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas de coliformes totales, el aceite de romero no inhibe el crecimiento de la bacteria *E. coli* y coliformes totales sin embargo, sí reduce su crecimiento poblacional, como se demuestra con los resultados del tratamiento 2 Ac 260 mbar.

CONCLUSIONES

Se logró establecer la metodología para desarrollar un recubrimiento con nanocápsulas de aceite de romero como antimicrobiano y la incorporación a un envase que contuvo lomo de cerdo.

La incorporación de nanocápsulas de aceite de romero en el envase favoreció en la preservación de las características fisicoquímicas del lomo de cerdo como lo fueron el color, pérdida de peso, pH y acidez durante los primeros 14 días.

La aplicación de nanocápsulas de aceite de romero como recubrimiento en la superficie del envase tuvo un papel de suma importancia para la conservación de los nutrientes de la carne, ya que no permitió una rápida degradación de las proteínas de la misma, lo que se ve reflejado en los resultados de las pruebas de las propiedades de textura; como lo son la dureza, capacidad de retención de agua y firmeza, manteniendo valores similares al día 0 durante 14 días.

De acuerdo con los resultados obtenidos se establece que el recubrimiento en el envase activo sí disminuye la velocidad de crecimiento de la bacteria *Escherichia coli*, tanto en condiciones de refrigeración (0 °C) como de incubación (37 °C), por lo que es una buena alternativa como tratamiento para prevenir la contaminación microbiológica del producto, acompañado del envasado al vacío y almacenamiento en refrigeración a 0 °C. Los dos tratamientos que presentaron aceite de romero en una concentración de 2mL/L presentaron un menor conteo de coliformes totales en

comparación a los demás tratamientos, siendo el tratamiento acompañado de vacío y sin inocular el que presentó los valores más bajos las primeras dos semanas.

La combinación de recubrimiento con aceite de romero y envasar con polietileno de alta densidad al vacío a 260 mbar ayuda a preservar las características de calidad del lomo de cerdo fresco en refrigeración a 0 °C durante más tiempo (aproximadamente 14 días), por lo que se considera una excelente alternativa para la conservación del lomo de cerdo.

La aplicación de nanoencapsulación de aceites esenciales, junto con la tecnología de envasado al vacío resulta favorable en la conservación de un producto mínimamente procesado de alto consumo, como lo es el lomo de cerdo, cuya comercialización está limitada por tratarse de un producto altamente perecedero y ser susceptible a la contaminación microbiológica.

REFERENCIAS

- Abutbul, S., Goldhirsch, G., Barazani, O., Zilberg, D. (2004). Use of *Rosmarinus officinalis* L. as a treatment against *Sreptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis sp.*). *Aquaculture*, 238,97-105
- Ahvenainen, R. (2003). Active and intelligent packaging, an introduction. In: *Novel Food Packaging Techniques*. (Ahvenaninen, R.) Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd., 5 – 21.
- Alberti, P., Panea, B., Ripoll, G., Sañudo, C., Olleta, J. L., Negueruela, I. (2005). Medición del color. En: *Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes*. (Cañeque, V., Sañudo, C.) Madrid, España: MICYT-INIA: Ganadera, (3)216-225.
- Alende, M., Volpi Lagreca, G., Pordomingo, A. J., Pighín, D., Grigioni, G., Carduza, F., ... Sancho, A. M. (2014). Efectos del tiempo de transporte, espera pre-faena y maduración en novillos sobre indicadores de estrés, calidad instrumental y sensorial de la carne. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 46(2), 217–227.
- Alquicira, E. P., Braña Varela, D., Rubio Lozano, M. S., & Delgado Suárez, E. (2013). *Carne Fresca: Consideraciones para su compra y manejo*. SAGARPA, México.

- AMSA. (1992). Guidelines for meat color evaluation American Meat Science. Chicago IL: Association National Live Stock and Meat Board.
- Antonio, J., Martínez, M., Vicario, I., Heredia, F. (2005). Correlation between visual and instrumental color measurements of orange juice dilutions: effect of the background. *Food Quality and Preference*, 16(5),471-478.
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis. 15th edition. Washington D.C. Association of Analytical Chemist International.
- Bad Bug Book. Doofborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook (BBB) (2001). *Escherichia coli* O157:H7. *Food & Drug Administration*. Center for Safety & Applied Nutrition. Disponible en: www.cfsan.fda.gov Consultado el 13 marzo 2018.
- Bailey, A. J., Elsdén, D. F., Shimokomaki, M. (1972). Meat tenderness: age related changes in bovine intramuscular collagen. *Journal of Food Science*, 37(6), 892-896.
- Bawa, R., Maebius, S., Flynn, T., Wei, C. (2005) Protecting new ideas and inventions in nanomedicine with patents. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*,150-158.
- Bingol, E. B., & Ergun, O. (2011). Effects of modified atmosphere packaging (MAP) on the microbiological quality and shelf life of ostrich meat. *Meat Science*, 88, 774-785.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Jovin, E. (2007) Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 55 (19), 7879-7885.
- Boskovic, M., Djordjevic, J., Ivanovic, J., Janjic, J., Zdravkovic, N., Glisic, M., ...

- Baltic, M. (2017). Inhibition of Salmonella by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere. *International Journal of Food Microbiology*, 258, 58–67.
- Braña-Varela, D., Ramírez-Rodríguez, E., Rubio-Lozano, M. de la S., Sánchez Escarlante, A., Torrescano Urrutia, G., Arenas de Moreno, M. L., ... Ríos Rincón, F. G. (2011). *Manual de Análisis de Calidad en Muestras de Carne*, SAGARPA.
- Brewer S. J., Wilson J. E., McKeith F. (2002). The effect of pig genetics and palatability, colorant physical characteristics of fresh loin chops. *Meat Science*, 61, 249-256.
- Brody, A. L. (1997). Packaging of food. In A. L. Brody & K. S. Marsh (Eds.), *The Wiley encyclopedia of packaging* (2nd ed.). New York: Wiley, 699–704.
- Castaño, H. I., Ciro, G., Zapata, J. E., Jiménez, S. L. (2010) Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. *Vitae*, 17, 149-154.
- Chaundhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross. B., Boxall, A., Castle. L., Watkins, R. (2008) Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives and Contaminants*, 25(3), 241-258.
- Chavarría-Quesada, A. (2015) Guía Descriptiva de los cortes de carne de res y cerdo. Instituto Nacional de aprendizaje. Costa Rica.
- Cheftel, J. C. (1992) Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Vol. 1, Zaragoza: Acribia

- Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., Finlay, B. B. (2013) Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 882-880.
- Dainty, H., Mackey, M. (1992). The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology*, 21,103-114
- De Azeredo, H. M. C. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International*, 42, 1240-1253.
- De Kruijf, N., Van Beest, M., Rijk, M., Sipiläinen-Malm, T., Paseiro Losada, P., De Meulenaer, B. (2002) Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. *Food Additives and Contaminants*, 19, 144-162.
- Ertbjerg, P., Henckel, P., Karlsson, A., Larsen, L. M. & Moller, A. J. (1999) Combined effect of epinephrine and exercise on calpain/calpastatin and cathepsin B and L activity in porcine longissimus muscle. *Journal of Animal Science*, 77(9), 2428-2436.
- FAO (2004) Almacenamiento no refrigerado o refrigerado de la carne fresca y los subproductos comestibles. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/004/T0566S/T0566S12.htm>. Consultado el 04 junio 2018.
- FAO (2007) Producción y sanidad animal. Composición de la carne. Disponible en http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_composition.html. Consultado el 02 abril 2018
- FAO (2018) Carne y productos cárnicos. Calidad de la carne. Disponible en http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/quality_meat.html. Consultado el 02 abril 2018

- Farbood, M. I., MacNeil, J. H., & Ostovar, K. (1976). Effect of rosemary spice extractive on growth of microorganisms in meats. *Journal of Milk and Food Technology*, 39(10), 675–679.
- Fessi, H., Puisieux, F., Devissaguet, J. P. (1988) Procédé de préparation de systèmes colloïdaux dispersibles d'une substance sous forme de nanocapsules. European Patent 274961 A1, 20 July
- FIRA (2017) Panorama Agroalimentario. Carne de cerdo 2017. Disponible en <http://www.ugrpg.org.mx/pdfs/Panorama%20Agroalimentario%20Carne%20de%20cerdo%202017.pdf>. Consultado el 21 marzo 2018.
- Foladori, G., Invernizzi, N. (2006) La nanotecnología: una solución en busca de problemas. *Comercio Exterior*, 56: 326-334.
- Foodborne Pathogens in Laboratory Media and Oriental-Style Rice Cakes. *Journal of Food Protection*, 72(5), 1107–1111.
- Franco, P. A., Ramírez, L. M., Orozco, M. E., López, L. A. (2013). Determinación de *Escherichia coli* e identificación del serotipo O157:H7 en carne de cerdo comercializada en los principales supermercados de la ciudad de Cartagena. *Revista Lasallista de la Investigación*, 10, 91-100.
- Franco, D., Rodríguez, E., Purriños L., Crecente, S., Bermúdez, R., Lorenzo, M. (2011). Meat quality of “Galician Mountain” foals breed. Effect of sex, slaughter age and livestock production system. *Meat Science*, 88(2),292-298.
- Fuentes-López, A., García-Matínez, E., & Fernández-Segovia, I. (2012). Determinación de la capacidad de retención de agua (CRA). Método de prensado. *Ed. Universidad Politécnica de Valencia*, España. 1–6.

- Gill, C. O. (1995). MAP and CAP for fresh meats, poultry and offals. In: *Principles of Modified-Atmosphere and Sous Vide Product Packaging*. (Farber, J. M., Dodds, K. L.) Lancaster, PA: Technomic Publishing, 269-298.
- Glossary of Packaging Terms (1988). Stamford, CT: The Packaging Institute International. United States of America.
- González-Hurtado, M. I., Mesa-Gaviria, C. A., & Quintero-Cardona, O. A. (2014). Estimación de la vida útil de almacenamiento de carne de res y de cerdo con diferente contenido graso. *Vitae*, 21(3), 201–210.
- Hamad, A. F., Han, J. H., Kim, B. C., & Rather, I. A. (2018). The intertwine of nanotechnology with the food industry. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 25(1), 27–30.
- Hann, H. J. (2005) Innovations in food packaging. United Kingdom: Academic Press, 517
- Hendrick, W., Parker, M., Lee., R. (2001) Using microsatellite and MHC variation to identify species, ESUs, and Mus in the endangered Sonoran topminnow. *Mol. Ecol.*, 10(6),1399-1412.
- Holmer, S. F., McKeith, R. O., Boler, D. D., Dilger, A. C., Eggert, J. M., Petry, D. B., ... Killefer, J. (2009). The effect of pH on shelf-life of pork during aging and simulated retail display. *Meat Science*, 82(1), 86–93.
- Honikel, K. O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, 49(4), 447–457.
- Huff-Lonergan, E., Lonergan, M. S. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of post-mortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71(1), 194-204.

- Huff-Lonergan, E. Zhang, W., & Lonergan, S. M. (2010) Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanism of meat tenderization. *Meat Science*, 86(1), 184-195.
- Hughes, J. M., Oiseth, S. K., Purslow, P. P., & Warner, R. D. (2014). A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness. *Meat Science*, 98(3), 520–532.
- Hutton, T. (2003). Food packaging: An introduction. *Key topics in food science and technology*. Chipping Campden, Gloucestershire, UK: Campden and Chorleywood Food Research Association. (7) 108.
- Jayasena, D. D. & Jo, Ch. (2013) Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat industry: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 34, 96 – 108.
- Jeremiah, L. E. (2001). Packaging alternatives to deliver fresh meats using short- or long-term distribution. *Food Research International*, 34, 749-772.
- Joo, S. T., Kauffman, R. G., Lee, S., Kim, C. J., Greaser, M. L. (1995) Variation in water loss of PSE pork musculature over time. Proc. 41st Int. Congr. Meat Science, San Antonio, TX, 658-659.
- Juárez, M., Caine, W. R., Dugan, M. E. R., Hidioglou, N., Larsen, I. L., Uttaro, B., Aalhus, J. L. (2011). Effects of dry-ageing on pork quality characteristics in different genotypes. *Meat Science*, 88(1), 117-121.
- Karabagias, I., Badeka, M. G., Kontominas, M. G. (2011). Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Science*, 88, 109-116.
- Karamucki, T., Rybarczyk, A., & Gardzielewska, J. (2013). The influence of myoglobin on the colour of minced pork loin. *Meat Science*, 94, 234–238.

- Kerry, J. P., O'Grady, M. N., & Hogan, S. A. (2006). Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science*, 74(1), 113–130.
- Koohmaraie, M., Arthur T., Bosilevac, J., Guerini, M., Shackelford, S., Wheeler, T. (2005). Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef. *Meat Science*, 71,79—91.
- Koohmaraie, M., Whipple, G., Kretchmar, D. H., Crouse, J. D., Mersmann, H. J. (1991). Postmortem proteolysis in longissimus muscle from beef, lamb and pork carcasses. *Journal of Animal Science*, 69(2), 617-624.
- Lara, D. R. A., Costas, D. G., & Formento, D. P. (2012). Manual de cortes de para ABASTO carnes alternativas conejo - cerdo - pollo - ovino. México.
- Lawrie, R. A. (1974) Ciencia de la carne. 2da edición. España: Acribia
- Lee, S.-Y., Gwon, S.-Y., Kim, S.-J., & Moon, B. K. (2009). Inhibitory Effect of Commercial Green Tea and Rosemary Leaf Powders on the Growth of Foodborne Pathogens in Laboratory Media and Oriental-Style Rice Cakes. *Journal of Food Protection*, 72(5), 1107–1111.
- Lee, D. S., Yam, K. L., Piergiovanni L. (2008). Vacuum/Modified Atmosphere Packaging. In *Food Packaging Science and Technology*. USA: CRC Press, 397-398.
- Leygonie, C., Britz, T. J., Hoffman, L. C. (2011). Protein and lipid oxidative stability of fresh ostrich *M. iliofibularis* packaged under different modified atmospheric packaging conditions. *Food Chemistry*, 127, 1659-1667.
- Li, X., Lindahl, G., Zamaratskaia, G., Lundström, K. (2012). Influence of vacuum skin ackaging on color stability of beef longissimus lumborum compared with

- vacuum and high-oxygen modified atmosphere packaging. *Meat Science*, 92, 604-609.
- Lorenzo, M. J. & Gomez, M. (2012). Shelf life of fresh foal under MAP, overwrap and vacuum packaging conditions. *Meat Science*, 92, 610-618.
- Lurueam, M. A. (2001) Gominolas de petróleo. Sobre el color de la carne. Disponible en http://www.gominolasdepetroleo.com/2011_09_01_archive.html. Consultado el 02 abril 2018
- Marino, .M., Bersani, C., Comi, G. (2001). Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiacea and Compositae. *International Journal of Food Microbiology*, 67, 187 – 195.
- Martínez, M. (2003) Aceites Esenciales. *Revista de Facultad Química Farmacéutica*. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
- Medi, H., Djurkin, I., Pleadin, J., Koza, L., Njari, B., Hengl, B., & Ku, G. (2018). The impact of frozen storage duration on physical , chemical and microbiological properties of pork, *Meat Science* , 119–127.
- Mendoza, S., Ciprian, A., Camacho, J., Montaraz, J. A. (1993). Comparisson of three biological assays for the detection of toxigenic properties of *Bordetella bronchiseptica* associated with atropgic rhinitis. *Veterinary Microbiology*, 36, 215-219.
- Miltz, J., Passy, N., Mannheim, C. H. (1995). Trends and applications of active packaging systems. In: *Food and Packaging Materials – Chemical Interaction*. (Ackerman, P., Jagerstad, M., Ohlsson, M.) United States of America: The Royal Society of Chemistry, 201-120.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., Elaissari, A. (2010) Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 385, 113-142.

- Mor-Mur, M., Yuste, J. (2001) Importancia de la refrigeración en la conservación de la carne. *Tecnología de los Alimentos*. Departamento de Ciencia Animal y de los alimentos. UAB. España
- Neo, Y. P., Ray, S., Jin, J., Gizdavic-Nikolaidis, M., Nieuwoudt, M. K., Liu, D., Quek, S. Y. (2013) Encapsulation of food grade antioxidant in natural biopolymer by electrospinning technique: a physicochemical study based on zein-gallic acid system. *Food Chemistry*, 136 (2) 1013-1021.
- Nerin, C., Tovar, L., Djenane, D., Camo, J., Salafranca, J., Beltrán, J. A., Roncalés, P. (2006). Stabilization of beed meat by a new active packaging containing natural antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7840-7846.
- NMX-F-511-1998 Alimentos. determinación de acidez en alimentos. Normas Mexicanas.
- NOM-009-ZOO-1994. Proceso sanitario de la carne. Norma Oficial Mexicana.
- NOM.051-SCFI-/SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria. Norma Oficial Mexicana.
- NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes: técnica del número más probable. Norma Oficial Mexicana
- Offer, G. & Cousins, T. (1992) The mechanism of drip production: Formation of two compartments of extracellular space in muscle *Post mortem*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 58(1),107-117.
- OMS (2017). Centro de prensa. Notas Descriptivas: E. coli. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/> Consultado el 14 marzo 2018

- Ozdemir, M. & Floros, J. D. (2010) Active Food Packaging Technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44(3),185-193.
- Paciotti, G. F., Kingston, D. G. I., Tamarkin, L. (2006) Colloidal gold nanoparticles: a novel nanoparticle platform for developing multifunctional tumor-targeted drug delivery vectors. *Drug Delivery Research*., 67, 47-54.
- Pearce, K. L., Rosenvold, K., Andersen, H. J., Hopkins, D. L. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes – A review. *Meat Science*, 89, 111-124.
- Pomponio, L., Laestsch, R., Karlsson, A. H., Costa, L. N., Grossi, A. & Ertjerg, P. (2008) Evidence for post-mortem m-calpain autolysis in porcine muscle. *Meat Science*, 80(3), 761-764
- Quintanar, G. D., Alléman, E., Doelke, E. & Fessi, H. (1998) Preparation and characterization of nanocapsules from performed polymers by a new process based on emulsification-diffusion technique. *Pharmaceutical Research*, 15(7), 1056-1062.
- Quintavalla, S., & Vicini, L. (2002). Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, 62(3), 373–380.
- Rebollar-Rebollar, S., Gómez-Tenorio, G., Callejas-Juárez, N., Guzmán-Soria, E., & Hernández-Martínez, J. (2014). Óptimos técnicos y económicos en cortes de carne de cerdo en dos regiones de México, 25(1), 161–168.
- Robertson, G. L. (2013). Packaging of Flesh Foods. In: Food Packaging: Principles and Practice. United States of America: CRC Press, 451-452.
- Rodríguez, R. M. (2008) Bases de la alimentación humana. España: CEDRO.

- Romeu, C. R., Botta Ferret, E., & Díaz Finalé, Y. (2007). Caracterización fitoquímica del aceite esencial de romero (*Rosmarinus Officinalis* L.) y evaluación. *Fitosanidad*, 11(2), 75–78.
- Rosenthal, A. J. (1999) Food texture measurement and perception. Maryland, USA: Aspen Publishers.blishers.
- Rossi, M., Passeri, D., Sinibaldi, A., Angjellari, M., Tamburri, E., Sorbo, A., ... Dini, L. (2017). Nanotechnology for food packaging and food quality assessment. *Advances in Food and Nutrition Research*. 1st ed., Vol. 82.
- Rota, C., Carraminana, J. J., Burillo, J., & Herrera, A. (2004). In vitro antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *J Food Prot*, 67(6), 1252–1256.
- SAGARPA (2017). Boletín de prensa. Crecen 9.5 por ciento exportaciones de carne de porcino. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/jalisco/boletines/2017/marzo/Documents/2017B03015.PDF>. Consultado el 21 marzo 2018
- Sahoo, J., & Kumar, N. (2005) Quality of vacuum packaged muscle foods stored under frozen conditions: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 42, 209-213.
- Sanz-Egaña, C. (1967) Enciclopedia de la carne. España: Espasa – Calpe, 905-917.
- Sealed Air*TM (2015). *Estructura Laminada Termoformable No. T60XXB*. México.
- Silvestre, C., Duraccio, D., & Cimmino, S. (2011). Food packaging based on polymer nanomaterials. *Progress in Polymer Science*, 36, 1766–1782.

- Simitzis, P. E., Deligeorgis, S. G., Bizelis, J. A., Dardamani, A., Theodosiou, I., & Fegeros, K. (2008). Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. *Meat Science*, 79, 217-223
- Simpson, M. V., Smith, J. P., Simpson, B. K., Ramaswamy, H., Dodds, K. L. (1994) Storage studies on a *sous vide* spaghetti and meat sauce product. *Food Microbiology*, 11, 5-14.
- Sirocchi, V., Devlieghere, F., Peelman, N., Sagratini, G., Maggi, F., Vittori, S., & Ragaert, P. (2017). Effect of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil combined with different packaging conditions to extend the shelf life of refrigerated beef meat. *Food Chemistry*, 221, 1069–1076.
- Sirocchi, V., Caprioli, G., Cecchini, C., Coman, M. M., Cresci, A., Maggi, F. (2013). Biogenic amines as freshness index of meat wrapped in a new active packaging system formulated with essential oils of *Rosmarinus officinalis*. *International Journal of Food Sciences & Nutrition*, 64(8), 921 – 928.
- Skandamis, P. N., Nychas, G. J. E. (2000). Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 1646–1653
- Strydom, P. E., & Hope-Jones, M. (2014). Evaluation of three vacuum packaging methods for retail beef loin cuts. *Meat Science*, 98(4), 689–694.
- Svetlana, F. (2015) Envasado a vacío. Figura 4. Recuperada de: https://www.shutterstock.com/g/saddako?page=3§ion=1&search_source=base_gallery&language=es
- Taylor, R. G., Geesink, G. H., Thompson, V. F., Koohmaraie, M., Goll, D. E. (1995). Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? *Journal of Animal Science*, 73, 1351-1367.

- Velázquez, M., Ordorica, M. (1982). Ácidos, bases, pH y soluciones reguladoras Bioquímica Médica del Instituto Politécnico Nacional. Disponible en: <http://www.bioquimica.dogsleep.net/Teoria/archivos/Unidad24.pdf>
Consultado el 12 marzo 2018.
- Verger, E. (2015) ¿Qué es un sarcómero? CienciaToday. Disponible en: <https://cienciatoday.com/sarcomero/> Consultado el 25 julio 2018
- Wang, C., Yang, J., Zhu, X., Lu, Y., Xue, Y., & Lu, Z. (2017). Effects of Salmonella bacteriophage, nisin and potassium sorbate and their combination on safety and shelf life of fresh chilled pork. *Food Control*, 73, 869–877.
- Weir, C. E. (1960) Palatability characteristics of meat. *The science of meat and meat products*, 42, 315-319.
- Wolffs, P., Radstrom, P. (2006). Real-time PCR for the detection of pathogens in meat. In: *Advanced Technologies for Meat Processing*. (Nollet, M. L., Toldrá, F.) *Food Science and Technology*, 131-154.
- Wrona, M., Nerín, C., Alfonso, M. J., Caballero, M. A. (2017) Antioxidant packaging with encapsulated green tea for fresh minced meat. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 41;307-313.
- Zeece, M. G., Kato, K., Robson, R. M., Parrish, F. C. (1986). Effect of Cathepsin D on bovine myofibrils under different conditions of pH and Temperature. *Journal of Food Science*, 51(3),769-773.
- Zhu, H., O'Farrell, M., Hansen, E. W., Andersen, P. V., Berg, P., & Egeland, B. (2017). The potential for predicting purge in packaged meat using low field NMR. *Journal of Food Engineering*, 206, 98–105.

Zimerman, M., Sañudo-Astiz, C. & González, C. (2008). pH de la carne y factores que lo afectan. *Aspectos estratégicos para obtener carne ovina de calidad en el cono su mexicano*, México. 141-152.