



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

**APLICACIÓN DE ALTAS PRESIONES
ISOESTÁTICAS PARA LA CONSERVACIÓN DE
CORTES DE CARNE DE VACUNO**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN INGENIERÍA

INGENIERÍA QUÍMICA - BIOINGENIERÍA

P R E S E N T A

M. I. Beatriz Estela Sánchez Basurto González

TUTOR

Dr. Alberto Tecante Coronel

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente: Dra. Amelia María de Guadalupe Farrés González Saravia

Vocal: Dra. María Isabel Guerrero Legarreta

Secretario: Dr. Ángel Enrique Chávez Castellanos

1° Suplente: Dr. Rubén Moreno Terrazas

2° Suplente: Dra. Edith Ponce Alquicira

Lugar donde se realizó la tesis

Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Departamento de Alimentos y Biotecnología. Laboratorio L-313.

Los resultados de este trabajo se presentaron en

- Semana de la Ciencia y la Innovación 2010 ICyTDF, con el título “Efecto de altas presiones isoestáticas sobre la calidad integral de carne de bovino”, Palacio de Minería de la Ciudad de México, 22-26 de noviembre de 2010. Modalidad cartel.
- 1° Feria de Innovación Tecnológica de la Ciudad de México (Vanguardia Tecnológica 2011, ICyTDF). Trabajo seleccionado en la Semana de la Ciencia y la Innovación 2010 ICyT D.F. Centro Internacional de Exposiciones y Convenciones World Trade Center, Ciudad de México, 14-18 de marzo de 2011. Modalidad cartel.
- XXXII Encuentro Nacional y 1er Congreso Internacional AMIDIQ-2011 con el título “Effect of high hydrostatic pressures on beef meat preservation”, Riviera Maya-Quintana Roo, 3-6 de mayo de 2011. Modalidad presentación oral.
- Beatriz E. Sánchez-Basurto, Mariana Ramírez-Gilly, Alberto Tecante, Patricia Severiano-Pérez, Carmen Wachter and María A. Valdivia-López. (2012). Effect of high hydrostatic pressure treatment on the preservation of beef meat. *Industrial & Engineering Chemistry* 51, 5932–5938.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme seguir creciendo profesionalmente con un alto nivel académico dentro de sus instalaciones.

Al Posgrado en Ingeniería de la UNAM por el apoyo económico para asistir al 1er Congreso Internacional y XXXII Encuentro Nacional AMIDIQ-2011.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de mis estudios de doctorado.

Al Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (ICyTDF) por el apoyo financiero para la realización de este trabajo que forma parte del proyecto “Efecto de las altas presiones isoestáticas sobre la calidad integral de la carne de bovino” PICS0842.

A la M. en C. María de Jesús Ramírez Palomares y al M. en C. Marcos Francisco Báez Fernández de la Universidad La Salle, por su apoyo para hacer algunas mediciones de color en esa institución.

A la I. A. Mariana Ramírez Gilly por su apoyo técnico, tiempo y esfuerzo para la realización de las pruebas de alta presión.

A la Bióloga María Teresa Flores Espinosa por su asesoría, apoyo, paciencia y tiempo para hacer las pruebas de cuenta en placa.

A la Dra. Gloria Díaz Ruiz por su apoyo y tiempo para la siembra de patógenos.

A la Q.F.B. Bertha Julieta Sandoval Guillén por permitirme usar el equipo de empacado al vacío.

A la Dra. Patricia Severiano Pérez por su disponibilidad, asesoría y apoyo para la medición de color, textura con el equipo TA XT2 y el análisis estadístico de datos.

A la Dra. María del Carmen Wachter Rodarte y a la M. en C. María de los Ángeles Valdivia López por su apoyo con algunos materiales y sus asesorías para la realización de este trabajo.

A Patricia Vargas Valencia, Gloria García Manrique, Beatriz López y Marcos Ordaz Téllez por su ayuda con los trámites escolares, adquisición de beca y el apoyo que en todo momento me brindaron durante la realización de mis estudios de posgrado.

A mi Comité Tutorial: La Dra. Amelia María de Guadalupe Farrés González Saravia y el Dr. Rafael Herrera Nájera por sus observaciones, recomendaciones y contribuciones que permitieron mejorar este trabajo, además del apoyo constante durante todos mis estudios de doctorado.

A mis sinodales la Dra. Amelia María de Guadalupe Farrés González Saravia, la Dra. María Isabel Guerrero Legarreta, la Dra. Edith Ponce Alquicira, el Dr. Ángel Enrique Chávez Castellanos y el Dr. Rubén Moreno Terrazas por su dedicación e interés mostrados en la revisión y las sugerencias para mejorar la presentación del documento escrito.

En especial al Dr. Alberto Tecante Coronel, por su paciencia y dedicación todos estos años de estudio que hemos compartido.

DEDICATORIAS

A Dios por haberme permitido terminar.

Principalmente a mi esposo Juan Antonio Sánchez Sánchez que siempre me inspira a salir adelante con todo cariño y dedicación.

A mis hijos Diego y Jimena Sánchez Sánchez Basurto por su entusiasmo y lucha.

A mis padres Francisco Sánchez Basurto y Alicia González Cervantes, quienes siempre están presentes en mi vida.

A mi suegra Martha Isabel Sánchez Aparicio y sus hermanos Rosi, Flor y René.

A mis tíos Soco, Luisi y Oscar.

A mis hermanos Francisco, Gonzalo y Alicia Sánchez Basurto González.

A mis sobrinos Javier y Rodrigo Sánchez Basurto Mayo que me permiten ver las metas con claridad.

A mis compañeros del Laboratorio 313 Emmanuel, Alejandra, Rodrigo, Karina, Marlene, Susana, Olga, Luna, Nora e Ixchel. Por los momentos compartidos.

A mis amigas Estela, Mary, Irene, Susana, Regina y Martha.

RESUMEN

El principal objetivo de esta investigación fue encontrar las condiciones adecuadas de tratamiento por alta presión isoestáticas (API) para conservar carne cruda de bovino y de esta forma evaluar el uso de este método de conservación en la industria cárnica. Se hicieron pruebas fisicoquímicas y microbiológicas considerando la Norma Mexicana NOM-034-SSA1-1993, para verificar que la API permite prolongar la estabilidad y alarga la vida de anaquel de este alimento y lo hace seguro para el consumidor.

La carne empacada al vacío en bolsas de polietileno fue tratada primero en el intervalo de presiones de 172-620 MPa durante 1-5 minutos a una temperatura inicial de 25 ± 3 °C. Presiones mayores de 345 MPa y tiempos de exposición mayores de 1 minuto degradaron el color característico de la carne fresca. Presiones menores de 310 MPa no redujeron el número de unidades formadoras de colonias (UFC/g) de mesófilos aerobios. Con base en estos dos criterios se seleccionaron las presiones de 310, 324 y 345 MPa para el resto del estudio. Los cortes almacenados a 4 °C fueron estudiados por 42 días. Se examinó el pH, la capacidad de retención de agua (CRA), la concentración de bases volátiles totales (BVT), las UFC/g, el color instrumental, la textura instrumental y la terneza, entre otros.

La concentración de BVT en la carne tratada a 345 MPa se mantuvo por abajo del límite máximo señalado por la norma después de 42 días de almacenamiento. Las UFC/g de la carne sin tratamiento por API rebasaron el límite máximo señalado por la norma en los primeros tres días. Las UFC/g de la carne tratada por API se mantuvieron por abajo del límite máximo de la norma durante todo el periodo de almacenamiento. El tratamiento a 345 MPa por 1 minuto produjo los mejores resultados considerando la condición inicial de la carne adquirida en el comercio.

El color instrumental, la textura instrumental y la terneza de la carne no tratada y la carne tratada por API no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$). El tratamiento por API y la refrigeración permitieron conservar la carne por periodos de hasta 42 días. Con base en esto es posible postular que la carne así tratada puede destinarse al consumo directo, puede ser usada como materia prima para la fabricación de productos cárnicos o puede conservarse por más tiempo si se desea exportarla.

Adicionalmente, se inocularon los patógenos más representativos en la carne para determinar la reducción producida por el tratamiento a 345 MPa por 1 minuto. Dentro de la norma NOM-034-SSA1-1993 se encuentran *Staphylococcus aureus* con un límite de 1 000 UFC/g y *Salmonella* como ausente en 30 g de muestra. También se hicieron pruebas con *Escherichia coli* O157H7 debido a que es un

microorganismo causante de las toxiinfecciones alimentarias más importantes en la actualidad y puede ser transmitido por la carne a sus consumidores. Se observó una reducción de cuatro ciclos logarítmicos en *E. coli* y en *Salmonella typhimurium* atribuida a su carácter Gram negativo que los hace más sensibles al tratamiento por APH. Se observó una reducción de *S. aureus* de dos ciclos logarítmicos. La cuenta de los microorganismos mencionados a los 7 días de almacenamiento en refrigeración mostró una reducción poco significativa de *E. coli*, *Salmonella typhimurium* y *S. aureus*. Sin embargo, no se observó incremento de UFC/g durante el almacenamiento por lo que se postula un daño irreversible causado por la API.

ABSTRACT

The main goal of this investigation was to find the more suitable conditions for HHP to be applied on raw beef meat and extend its shelf life, and in this way to assess this method of preservation in the meat industry. Physicochemical and microbiological tests considering the Mexican Sanitary Standard NOM-034-SSA1-1993 were taken as reference to verify the effect of HHP on extension of meat stability, shelf life and safety for consumption.

Meat vacuum-packed in polyethylene bags was treated first in the range of pressures from 172-620 MPa for 1-5 min at an initial temperature of 25 ± 3 °C. Pressures greater than 345 MPa and exposure times greater than 1 min resulted in undesirable color degradation. Pressures lower than 310 MPa did not reduce the number of colony forming units (CFU/g) of aerobic mesophiles. On the basis of these two criteria pressures of 310, 324 and 345 MPa were selected to study the effect of HHP. Meat samples stored at 4 ° C were studied for 42 days. Measurements included Ph, water holding capacity (WHC), total volatile bases (TVB), UFC/g, instrumental color, instrumental texture and tenderness, among others.

Differences were observed between untreated and treated meat for all the selected pressures. Concentration of TVB in meat treated at 345 MPa remained below the maximum limit of the sanitary standard after 42 days of cold storage. The CFU/g of untreated meat surpassed the maximum limit set by the sanitary standard during the first three days. The CFU/g of treated meat remained below the maximum limit along the storage period. Treatment at 345 MPa for 1 min produced the better results considering the initial condition of commercial meat.

Instrumental color, instrumental texture and tenderness of untreated and treated meat were not significantly different ($p > 0.05$). Treatment by HHP and refrigeration allowed meat to be preserved for periods of up to 42 days. On this basis it is possible to postulate that pressure-treated meat can be suitable for direct consumption or can be used as raw material for meat products or can be preserved for longer time if it is to be exported.

Additionally, representative pathogenic microorganisms were inoculated in meat to determine the reduction arising by treatment at 345 MPa for 1 minute. The sanitary standard NOM-034-SSA1-1993 includes *Staphylococcus aureus* with a limit of 1000 CFU/g and *Salmonella* absent in 30 g of sample. Tests were also done for *Escherichia coli* O157H7 due to its actual importance as an etiologic agent of food poisoning and because it can be transmitted through meat to consumers. A reduction of four

logarithmic cycles was observed for *E. coli* and *Salmonella typhimurium* which can be attributed to its Gram negative character making them more sensitive to treatment by HHP. A reduction of two logarithmic cycles was observed for *S. aureus*. The reduction in CFU/g for of *E. coli*, *Salmonella typhimurium* and *S. aureus* after one week of cold storage was not significant. However, proliferation of these bacteria was not observed suggesting irreversible damage by HHP.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	14
-------------------	----

Capítulo I

LA CARNE

1.1	Definición.....	16
1.2	Clasificación.....	16
1.3	Composición y estructura del músculo.....	16
1.4	Proceso de contracción.....	19
1.5	Establecimiento de rigor mortis y cambios postmortem.....	19
1.6	Calidad de la carne.....	22
1.7	Descomposición de la carne.....	23
1.8	Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA1-1993.....	24
1.9	Microbiología de la Carne.....	25
1.10	Bases Volátiles Totales.....	32
1.11	Índice de Acidez.....	33
1.12	Ph.....	34
1.13	Capacidad de retención de agua.....	35
1.14	Hipoxantina.....	35
1.15	Color.....	36
1.16	Propiedades Mecánicas.....	39

Capítulo II

ALTAS PRESIONES ISOESTÁTICAS (API)

2.1	Introducción.....	42
2.2	Antecedentes de API.....	42
2.3	Sistemas de presurización.....	43
2.4	Fundamento de API.....	43
2.5	Equipos de tratamiento por API.....	44
2.6	Efectos de API sobre los constituyentes de los alimentos.....	45
2.7	Efectos de API sobre los microorganismos.....	48
2.8	Estudios previos de API sobre la carne.....	49
2.9	Justificación.....	52
2.10	Objetivo.....	52
2.11	Hipótesis.....	52

Capítulo III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Materia prima.....	53
3.2	Diagrama de trabajo experimental.....	54
3.3	Cuenta en placa por expansión en superficie.....	55
3.4	Determinación de bases volátiles totales (BVT).....	57
3.5	Determinación del índice de acidez (IA).....	57
3.6	Medición de pH.....	58
3.7	Determinación de la CRA.....	58
3.8	Análisis de la cantidad de hipoxantina.....	58
3.9	Color instrumental.....	59
3.10	Propiedades mecánicas.....	60
3.11	Tratamiento por alta presión hidrostática	60
3.12	Análisis estadístico	61

Capítulo IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Microorganismos.....	63
4.2	Bases Volátiles Totales.....	67
4.3	Índice de acidez.....	68
4.4	pH.....	69
4.5	Capacidad de retención de agua (CRA).....	71
4.6	Hipoxantina.....	72
4.7	Color instrumental	73
4.8	Propiedades mecánicas.....	77
4.8	Costo de la APH.....	79
CONCLUSIONES.....		83
REFERENCIAS.....		84
ANEXO A.....		91
ANEXO B.....		99
ANEXO C.....		101

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Esquema del corte transversal de un músculo.....	17
Figura 1.2. Fascículos musculares.....	18
Figura 1.3. Fibras musculares.....	18
Figura 1.4. Unidad estructural del sarcómero.....	19
Figura 1.5. Producción de ácido láctico a partir de ácido pirúvico.....	33
Figura 1.6. Esquema global de la oxidación de la glucosa.	34
Figura 1.7. a) Adenosin trifosfato (ATP), b) Inosin monofosfato, c) Hipoxantina.....	36
Figura 1.8. Espectro electromagnético.....	37
Figura 1.9. Espacio de color CIEL*a*b*.....	38
Figura 1.10. Ciclos de color presentes en la mioglobina.....	39
Figura 1.11. Parámetros medibles en el análisis de perfil de textura.....	41
Figura 3.1. Diagrama de trabajo experimental.....	54
Figura 3.2. Curva patrón de hipoxantina.....	59
Figura 3.3. Efecto de API sobre el color de la carne	62
Figura 4.1. Variación con el tiempo de UFC/g en carne	64
Figura 4.2. Variación con el tiempo de la población de pseudomonas en carnes	66
Figura 4.3. Variación con el tiempo de la población de lactobacilos en carnes	67
Figura 4.4. Variación con el tiempo de BVT en carne.....	68
Figura 4.5. Variación con el tiempo de índice de acidez en carne tratada por APH	69
Figura 4.6. Variación con el tiempo del pH en carne.....	70
Figura 4.7. Variación con el tiempo de la CRA en carne.....	71
Figura 4.8. Variación con el tiempo de la concentración de hipoxantina en carne	72
Figura 4.9. Cambios durante el almacenamiento de la coordenada L* en carnes.....	74
Figura 4.10. Cambios durante el almacenamiento de la coordenada a*	75
Figura 4.11. Variación de la concentración de metamioglobina en carnes	76
Figura 4.12. Variación de la concentración de mioglobina en carnes	77
Figura 4.13. Variación de la concentración de oximioglobina en carnes.....	77
Figura 4.14. Curva obtenida con la celda WB.....	78
Figura 4.15. Curva típica de TPA.....	79
Figura 4.16. Diagrama del equipo de alta presión hidrostática.....	81

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1. Composición de diferentes cortes de carne de bovino.....	17
Tabla 1.2. Géneros bacterianos, de mohos y de levaduras encontrados en carne fresca.....	29
Tabla 2.1. Parámetros de color para diferentes tratamientos presión y temperatura.....	50
Tabla 2.2. Diferencia en los parámetros de color entre carne presurizada y sin tratamiento....	51
Tabla 3.1. Parámetros y condiciones para las pruebas de color.....	60
Tabla 4.1. Bacterias patógenas en carne sin tratamiento y tratadas a 345 MPa.....	65
Tabla 4.2. Bacterias patógenas en los controles y en carne tratadas a 345 MPa.....	65
Tabla 4.3. Parámetros de color.....	73
Tabla 4.4. Parámetros de color en filete	75
Tabla 4.5. Terneza WB y propiedades mecánicas de TPA de carne.....	80
Tabla 4.6. Tiempo y potencia de los accesorios durante la compresión a 345 MPa.....	81

INTRODUCCIÓN

La carne es un alimento proteínico de alto valor biológico, es decir, con mayor aporte de aminoácidos esenciales comparado con los alimentos de origen vegetal. Además contiene otros nutrientes; entre los que están ácidos grasos esenciales como el linoleico, linolénico y araquidónico, así como vitaminas del complejo B y minerales como fósforo, hierro, cobre, magnesio y cinc (Fennema, 2010). La carne de res para el consumo humano es una de las principales fuentes de proteína y grasa animal y por tanto, brinda el aporte de dichos nutrientes dentro de la dieta de la población. Sin embargo, por su naturaleza es un alimento perecedero y altamente susceptible a la contaminación microbiana.

El tratamiento por alta presión isoestática (API) es una tecnología innovadora para la conservación de alimentos, ya que inactiva enzimas, microorganismos patógenos y alterantes del alimento y tiene efectos mínimos sobre los atributos sensoriales de color, sabor y propiedades mecánicas, así como los de calidad tales como los nutricionales (Oey y col., 2008). Esta tecnología ha sido mejor aceptada por los consumidores para su utilización a nivel industrial en comparación con otras tecnologías como la radiación y los pulsos eléctricos, entre otras, quizá por ser de fácil comprensión (Veflen Olsen y col., 2010). Tiene aplicaciones comerciales en una amplia gama de productos tales como jugos naturales, purés, productos lácteos y mariscos (Balasubramaniam y col., 2008). A pesar de que la API ha demostrado su eficiencia para conservar alimentos es preciso examinar su aplicación en productos frescos tales como la carne de bovino, la cual es susceptible de cambiar sus propiedades sensoriales de color y textura debido a la desnaturalización proteínica que pudiera ocurrir como consecuencia del tratamiento por API. Por lo tanto, es necesario determinar las condiciones óptimas de tratamiento bajo las cuales se logre extender su vida de anaquel sin perder sus características sensoriales originales para así obtener un producto estable, seguro y de alta calidad.

El propósito principal de esta investigación fue encontrar las condiciones de tratamiento más adecuadas de alta presión isoestática para obtener estabilidad y alargar la vida de anaquel de carne de bovino cruda, evitando modificar sus principales características físicas. Para ello se planteó estudiar un corte magro de alta demanda como es el filete usando pruebas fisicoquímicas y microbiológicas de acuerdo con la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-034-SSA1-1993 (Anexo A) y las características sensoriales más importantes para su aceptación comercial. El proyecto es específico para un corte magro comercial, sin embargo, puede servir como base para carne destinada a otros usos tales como elaboración de embutidos en los cuales no sea tan importante la apariencia del color y la textura. Los resultados

generados permitirán contar con el soporte científico fundamental para la implementación de esta tecnología en la industrialización de la carne.

La posibilidad de aplicar una tecnología innovadora como la API para asegurar la calidad y conservación de la carne y por ende darle un valor agregado, no puede alcanzarse únicamente a través de proyectos de naturaleza científica en los cuales se investiguen los aspectos básicos o tecnológicos. Hace falta además que se creen las condiciones y mecanismos para que el sector productivo y los consumidores sean los usuarios y beneficiarios del conocimiento generado en proyectos como el desarrollado en esta tesis. La apertura comercial con países como Japón, Corea y China puede representar una oportunidad para los productores de carne de bovino logrando satisfacer con este tratamiento un mercado capaz de exigir y pagar por esta calidad (Sagarpa, 2006).

Esta tesis se divide en cuatro secciones. En la primera se presentan las características de la carne, su estructura, la conversión de músculo en carne, su microbiota o sus toxinas, sus alteraciones y la posible presencia de intoxicaciones por microorganismos patógenos, así como sus características principales para ser aceptada por los consumidores. En la segunda se presenta la alta presión isoestática o hidrostática, los primeros estudios, tipos de sistemas y equipos, efectos sobre los nutrimentos y los microorganismos y termina con su aplicación directa en la carne de bovino. En la tercera se ofrecen los detalles de las técnicas experimentales empleadas para la realización de esta investigación y se exponen las razones por las cuales se realizaron las pruebas. La última sección muestra los resultados obtenidos, las interpretaciones y las observaciones detalladas necesarias para obtener las conclusiones pertinentes del proyecto.

CAPÍTULO I

LA CARNE

1.1. Definición

La carne es la estructura compuesta por fibra muscular estriada, acompañada o no de tejido conjuntivo elástico, grasa, hueso, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos de las especies autorizadas para el consumo humano (NOM-030-ZOO-1995).

1.2. Clasificación

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

1. Carne roja incluye principalmente la de bovino, porcino y ovino de diferentes razas.
2. Carne blanca que es en general la carne de las aves.

1.3. Composición y estructura del músculo

Tradicionalmente se considera que la carne es de primera importancia como fuente de proteína y desde el punto de vista de los consumidores de occidente es indispensable para la salud y el bienestar. La calidad de una proteína está relacionada con su composición en aminoácidos esenciales y con su digestibilidad. Las proteínas animales son de mejor calidad en estos parámetros que las de origen vegetal, pues contiene los tipos y proporciones entre aminoácidos que son similares a las necesarias para el mantenimiento y desarrollo de los tejidos humanos. Del contenido total del nitrógeno del músculo, aproximadamente el 95% es proteína y el 5 % son péptidos pequeños, aminoácidos y otros compuestos. La calidad final de la carne depende de muchos factores, tanto premortem (raza, sexo, crianza, edad, alimentación, transporte, condiciones de matanza, etc.) como post-mortem (condiciones de almacenamiento tiempo y temperatura).

La composición básica de la carne varía entre los diferentes tipos de cortes. La carne es estructuralmente fibra muscular asociada en haces por tejido conectivo en el cual están abundantemente distribuidos vasos sanguíneos, nervios y células de grasa (Fennema, 2010). Existen datos reportados acerca de los constituyentes mayores y menores de diferentes cortes de carne en diferentes cortes. El análisis composicional de tres cortes reportado por Ramírez-Orejuel (2009) se muestra en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Composición de diferentes cortes de carne de bovino.

Corte	Humedad (g/100 g)	Lípidos (g/100 g de muestra seca)	Proteínas	Cenizas
Ribe eye	66.6 ± 0.40	30.7 ± 1.62	64.9 ± 1.12	2.80 ± 0.12
Sirloin	72.8 ± 0.90	15.8 ± 0.28	76.6 ± 0.31	3.80 ± 0.08
Filete	71.8 ± 1.44	1.60 ± 0.05	80.0 ± 1.12	3.70 ± 0.66

Ramirez-Orejuel, 2009.

La carne es el músculo esquelético después de las transformaciones bioquímicas; la estructura microscópica y la composición proteínica del músculo determinan las características de textura que incluyen un conjunto de sensaciones de las cuales el consumidor le confiere una mayor importancia a la ternera. La ternera es la cualidad de la carne de dejarse cortar y masticar, con mayor o menor facilidad, antes de la deglución y está directamente relacionada con la resistencia mecánica del producto consumible. Esta característica decide el valor comercial de la carne (Koochmaraie & Geesink 2006). El grado de organización del músculo esquelético y sus cambios después del sacrificio tienen estrecha relación con el grado de ternera que tendrá la carne. Cada músculo está rodeado por una gruesa lámina de tejido conectivo denominada epimisio. Del epimisio parten elementos de tejido conectivo que penetran en el músculo y lo dividen en grupos de haces o fascículos; este tejido conectivo lo constituye el perimisio, como se muestra en la Figura 1.1.

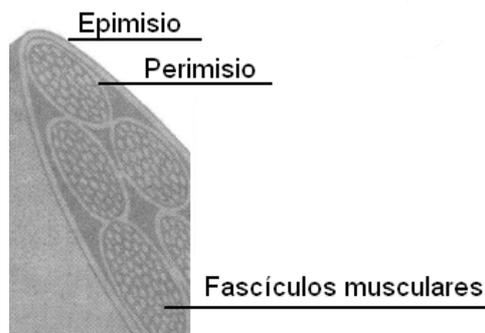


Figura 1.1. Esquema del corte transversal de un músculo (Hui y col., 2006).

Del perimisio parten septos muy delgados que penetran en los haces y rodean a cada uno de los fascículos musculares individuales; esa fina lámina de tejido conectivo se denomina endomisio (Figura 1.2).

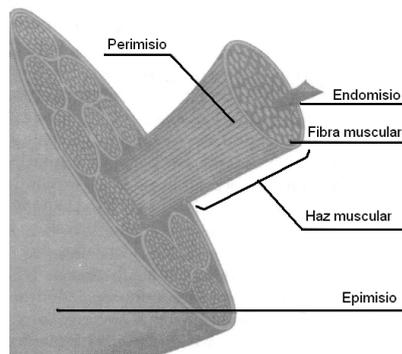


Figura 1.2. Fascículos musculares (Hui y col., 2006)

Las células grasas que presenta el músculo se localizan en el perimisio y son extrafasciculares. Este depósito graso es el responsable del veteado de la carne. La acumulación de lípidos en este depósito es un carácter muy deseado en algunos mercados como parámetro de calidad y tiene una gran influencia en la determinación del valor de la carne. La unidad estructural y funcional de las células musculares estriadas es el sarcómero, elemento que se repite a lo largo de las miofibrillas (Figura 1.3).

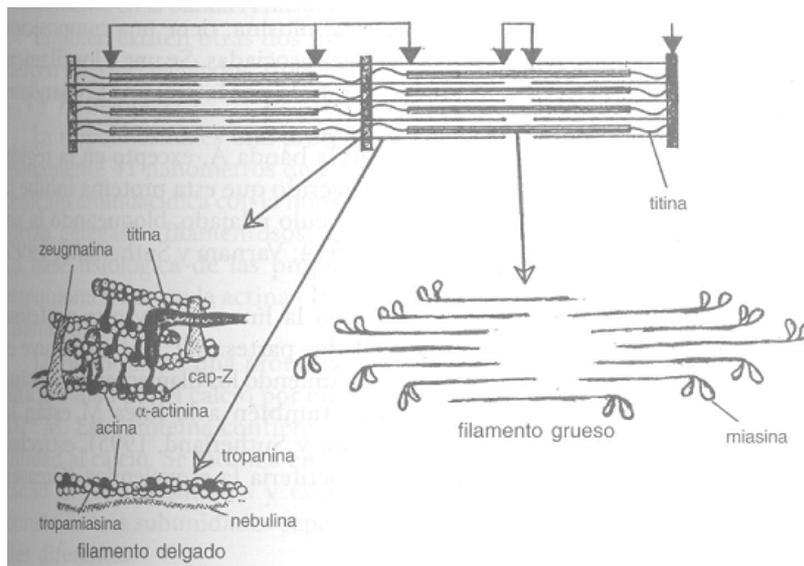


Figura 1.3. Fibras musculares (Hui y col., 2006).

El análisis de la estructura y composición molecular del sarcómero permite entender el mecanismo de contracción de las fibras musculares estriadas, el cual está basado en el deslizamiento de los miofilamentos gruesos sobre los miofilamentos finos. Los filamentos gruesos están formados principalmente por miosina y se localizan a lo largo de la banda A. Los filamentos finos corresponden a

microfilamentos de actina, estos anclan en la línea Z, luego siguen su curso a lo largo de la banda I y penetran la banda A, donde corren paralelos a los filamentos gruesos, terminando a nivel de la banda H que contiene sólo filamentos gruesos.

En la banda A se observan puentes que se extienden desde los filamentos gruesos hacia los filamentos finos y que corresponden a las cabezas de las moléculas de miosina. A nivel de la línea M cada filamento grueso se asocia con seis filamentos gruesos adyacentes, a través de puentes proteínicos dispuestos radialmente (Figura 1.4).

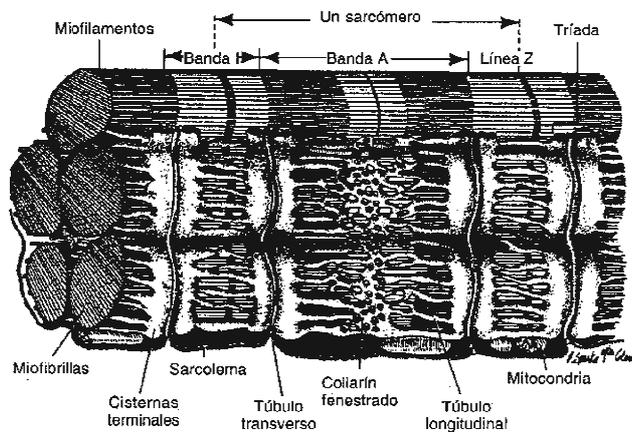


Figura 1.4. Unidad estructural del sarcómero (Fennema, 2010).

1.4. Proceso de contracción

Durante el proceso de contracción, los filamentos finos de los sarcómeros adyacentes son empujados hacia el centro de la banda A, lo que produce el acortamiento del sarcómero. Como consecuencia de este proceso, se obstruye la banda H y disminuye la longitud de la banda I, sin que se modifique la longitud de la banda A. El grado de traslape entre filamentos gruesos y finos explica este fenómeno de contracción muscular.

1.5. Establecimiento del *rigor mortis* y cambios *postmortem*

El proceso posterior a la muerte lleva a la transformación gradual del músculo en carne. Este proceso se puede dividir en tres etapas:

1. Pre-rigor, la cual se caracteriza porque el músculo es aún elástico.
2. *Rigor mortis*.
3. Resolución.

El tiempo en el que ocurre esta transformación depende de varios factores, particularmente de la especie animal y del método de sacrificio. La calidad de la carne depende de las condiciones *antemortem* y del manejo *postmortem* (Warris, 2003). En la etapa Pre-rigor una de las primeras operaciones del sacrificio es la eliminación de sangre, que produce la muerte del animal debido a un paro circulatorio y cardíaco. Tan pronto como la presión sanguínea se ve reducida, el sistema circulatorio ajusta sus funciones para mantener el abastecimiento de sangre a los órganos vitales, con un aumento de la frecuencia cardíaca y la vasoconstricción de las venas y arterias de la periferia. El sistema circulatorio provee de oxígeno y nutrientes al tejido muscular, además de eliminar los metabolitos de desecho. Con la exanguinación, la única fuente posible de oxígeno para soportar el metabolismo aerobio es aquel que se encuentra unido a la mioglobina. Posteriormente cuando el oxígeno se agota, el tejido muscular adopta un metabolismo anaerobio, en el cual la glucólisis es la única vía para obtener energía. Con el establecimiento del metabolismo anaerobio, las reservas de glucógeno disminuyen y el ácido láctico se acumula en el tejido muscular; esto provoca una reducción del pH desde valores cercanos a 7.0 hasta de 5.3 a 5.7, según la especie y el manejo. El pH final de la carne puede afectar sus propiedades fisicoquímicas (Puentes Aguayo, 2004).

Una rápida acidificación, cuando la temperatura corporal es aún elevada, provoca la desnaturalización proteínica reduciendo la solubilidad y la retención de agua. Esto le da a la carne una apariencia pálida, suave y exudativa (PSE). El fenómeno opuesto, en el cual el pH no disminuye debido a una baja reserva de glucógeno, genera una carne oscura, firme y seca (DFD por sus siglas en inglés) con una elevada capacidad de retención de agua.

Posterior a la muerte, se pierde el control nervioso, por lo que se observa la aparición de impulsos localizados, que inician rápidos ciclos de contracción y relajación muscular. El *rigor mortis* se presenta poco después de la muerte; el tejido muscular se encuentra en un estado de rigidez sostenida y es inextensible. Estos procesos son similares a los que ocurren durante la contracción muscular y son irreversibles como consecuencia del agotamiento de las reservas de trifosfato de adenosina (ATP por sus siglas en inglés) que evita la ruptura de los puentes cruzados entre actina y miosina. El desarrollo de la glucólisis anaerobia y la producción de ácido láctico se acompañan de una reducción de las reservas de glucógeno y de fosfato de creatina (FC) el cual disminuye gradualmente debido a que es utilizado para la refosforilación del difosfato de adenosina (ADP por sus siglas en inglés) en ATP. El ciclo de contracción-relajación se detiene debido a la falla en los mecanismos que sintetizan ATP, por lo que la

elasticidad muscular se pierde paulatinamente hasta llegar a un estado de contracción sostenida por la formación irreversible del complejo actomiosina (Hui y col., 2006).

La etapa posterior al *rigor mortis* es la resolución. En ella el tejido muscular recupera gradualmente cierta elasticidad debido a la pérdida de su integridad, mejorando la textura y formando compuestos precursores del aroma a carne. El aumento en la suavidad se debe a la degradación de proteínas como la titina, la nebulina, la actina y la miosina que da como resultado la pérdida de tensión y cambios en la estructura de las miofibrillas, además del debilitamiento de la línea Z por fragmentación de la desmina y de los costámeros que conectan las miofibrillas al endomisio presentes en la línea Z (Ahn y col., 2003).

Por efecto de los cambios *post mortem* las propiedades de la membrana se ven alteradas y el tejido es susceptible a reacciones autolíticas de degradación por acción de enzimas endógenas y exógenas. Las proteasas endógenas o sistemas enzimáticos debilitan la estructura miofibrilar como las caspasas, las catepsinas y calpaínas que actúan en forma cooperativa. En la industria cárnica es común la adición de proteasas vegetales como bromelina, papaína y ficina, que actúan sobre la actomiosina entre otras proteínas (Hori y col., 2002).

Las catepsinas o proteasas lisosomales ácidas degradan las proteínas como la miosina y la actina, además de carbohidratos y lípidos, ya que los lisosomas están relacionados con la digestión intracelular. Estas enzimas se liberan de los lisosomas en la etapa *post mortem* cuando desciende el pH, debido a que las membranas de los lisosomas se rompen por la diferencia de presión ejercida por los iones H^+ . Se han identificado 13 enzimas lisosomales de las cuales sólo siete se han reportado en el tejido muscular A, B, C, D, H, L y J (García- Barrientos y col., 2003). Las calpaínas también son conocidas como factor activado por calcio, o proteasas neutras activadas por calcio. Este grupo consta de dos tipos: m-calpaínas que requieren de alta concentración de calcio (300 μM) y μ -calpaínas que requieren una menor concentración (5 μM). Estas son también llamadas calpains I y II. Ambos tipos de calpaínas se encuentran en el sarcoplasma y tienen una actividad óptima a pH entre 6.6 a 6.8, por lo que se cree que actúan primordialmente en la etapa pre-rigor (Pérez y col., 2000; García-Barrientos y col., 2003). Sin embargo, algunos autores sugieren que el solo incremento en la concentración *post mortem* de iones Ca^{2+} en el sarcoplasma (hasta 0.2 mM) debilita la estructura de las miofibrillas y la de los filamentos intermediarios, en donde la desmina junto con la nebulina y la titina son las principales responsables del ablandamiento *post mortem* (Tatsumi & Takahashi, 2003).

1.6. Calidad de la carne

Es difícil definir el concepto de calidad de carne, porque incluye diferentes factores e interpretaciones. La calidad no significa lo mismo para productores, industriales y consumidores. Para los consumidores la calidad de carne comprende los siguientes aspectos (Sepúlveda y col., 2011):

1.6.1. Higiénico. Los alimentos deben ser totalmente inocuos para la salud de los consumidores. No deben contener residuos de pesticidas, hormonas o antibióticos que puedan inducir riesgo al consumirlos. Tampoco deben tener microorganismos ni toxinas peligrosas para el consumidor (NOM-034-SSA1-1993).

1.6.2. Nutritivo. Los alimentos son fuente de proteínas, lípidos y glúcidos necesarios para el organismo además de otros elementos indispensables para la salud humana como vitaminas y minerales.

1.6.3. Organoléptico o sensorial. Las propiedades organolépticas o sensoriales son percibidas directamente por el consumidor al comprar y comer el producto. Cada consumidor hace su propia evaluación. Los consumidores juegan un rol fundamental en la aceptación de los alimentos. Las características se detectan por los sentidos de la vista (tamaño, forma y color), tacto (propiedades mecánicas), gusto (sabor), olfato (aroma) y oído (sonido). El conjunto de percepciones para la carne está formado principalmente por:

1.6.3.1. El color al momento de comprarla. El color rojo de la carne se debe a la presencia del pigmento mioglobina. Como la hemoglobina en la sangre, la migolobina transporta oxígeno en el tejido muscular. Está formada por una proteína, un núcleo hemínico con un átomo de hierro. La cantidad de pigmento influye directamente en la intensidad del color rojo y varía con la especie, edad, raza, sexo, alimentación, ejercicio y ambiente del animal. La cantidad de pigmento y su estado químico son importantes. En presencia de oxígeno el pigmento está en forma de oximioglobina y es rojo brillante, sin oxígeno es púrpura y en forma de metamioglobina cuando se oxida produce un color marrón. Cuando este es el caso muchos consumidores no compran esta carne. El color puede depender del animal pero también de las condiciones de manejo y conservación de la carne, e.g., envasado, duración y temperatura de conservación. El envasado al vacío prolonga la vida útil del producto pero el color de la carne aparece oscuro. El envasado en atmósfera controlada, e.g., mezcla de CO₂ y O₂, mantiene el color rojo de la carne pero dura menos que cuando es envasada al vacío.

1.6.3.2. La ternera jugosidad y sabor al momento de consumirla. La ternera es la más importante para la mayoría de los consumidores y el tejido conectivo y las miofibrillas musculares son de gran importancia en esta propiedad sensorial. El estado del colágeno depende del músculo y del animal,

mientras que el estado de las miofibrillas varía también por las condiciones *post mortem*, las condiciones de manejo y conservación de la carne. Se ha observado una estrecha relación entre el contenido de colágeno y la dureza de los músculos. Los músculos de la res con menos colágeno son más tiernos y la clasificación de carnicería a menudo se basa en este parámetro; lomo, cuadril, bifés, carnaza de paleta y otros. Con base en un menor o mayor contenido de colágeno, el método de cocción de la carne es diferente: asado, estofado, puchero. Un mayor contenido de tejido conectivo necesita un largo tiempo de cocción para suavizar la carne. La cantidad de colágeno varía poco con la edad de los animales pero el grado de reticulación aumenta con la edad y disminuye su solubilidad. Esto explica por qué la carne de los animales adultos es más dura que la de los jóvenes, debido a la menor solubilidad del colágeno. Un ejemplo típico relacionado con la ternera es la diferencia que existe entre la carne de ternera y de vaca, aunque hay excepciones, también hay casos de carne de vaca tan tierna como la ternera y más sabrosa.

1.6.4. Utilidad y servicio. Este aspecto es cada vez de mayor importancia para los consumidores. En los últimos años se redujo el tiempo dedicado a la preparación de la comida diaria. Cada vez más se consideran útiles los "alimentos de conveniencia" por su mayor facilidad y rapidez de preparación. Los cortes de carne que requieren mayor preparación y tiempo de cocción se usan cada vez menos y se expande el consumo de carne picada, en cortes específicos y en platos preparados.

1.6.5. Imagen. A veces los alimentos se asocian con símbolos, pero la carne es en mayor o menor grado un alimento neutro. Algunas religiones o culturas prohíben el consumo de ciertas carnes, y otras tienen un detallado ceremonial. Muchas tradiciones se asocian con la imagen que los consumidores tienen de los animales productores de carne, e.g., criados en campo sobre pasturas y en libertad. También existen otras ideas sobre el concepto de calidad que, en algunos casos, son irracionales.

1.7. Descomposición de la carne

Después del sacrificio y maduración, la carne queda sujeta a numerosas reacciones químicas y enzimáticas con producción de moléculas de sabores y aromas característicos (aminoácidos y pequeños péptidos) que favorecen el sabor y la apariencia. Por otro lado hay oxidación de lípidos en carnes con mucha grasa y conservadas largo tiempo, esta degradación llega a formar el sabor a rancio. Los cambios que se efectúan cuando hay descomposición de la carne han sido revisados en la literatura (Ruiz-Capillas & Jimenez-Colmenero, 2004). La investigación detallada de la calidad de la carne sugerida por algunos autores (Troy & Kerry, 2010) incluye la determinación de bases volátiles totales, ácidos grasos libres e índice de peróxido para cortes grasos y en el caso de cortes magros por medio de las bases

volátiles totales. Los métodos fisicoquímicos, usados en la evaluación de la calidad, establecen estándares cuantitativos para evitar sustentar en opiniones personales la calidad del producto. Los alimentos cárnicos son por naturaleza perecederos y en ellos ocurren numerosos cambios durante su manejo y procesado. La adecuada comprensión de las diferentes reacciones causantes de deterioro es prioritaria para el desarrollo de procedimientos específicos que permitan una calidad óptima y una estimación precisa de su vida de anaquel. Los principales componentes que sufren deterioro en la carne son las proteínas y los lípidos. En una etapa inicial, se genera un ambiente sumamente reactivo debido a la presencia y predominio de radicales libres los que con el tiempo dan lugar a moléculas estables y volátiles que imparten sabores y olores desagradables.

1.8. Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA1-1993

La Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA1-1993 establece que las especificaciones sanitarias para consumir un producto seguro deben ser las siguientes:

- Fisicoquímicas, LÍMITE MÁXIMO: N₂ amoniacal 20 mg/ g de muestra. Se determina por medio de la técnica de bases volátiles totales.
- Microbiológicas, LÍMITE MÁXIMO: Mesófilos aerobios 5 000 000 UFC/g,
Salmonella spp. Ausente en 30 g de muestra
Staphylococcus aureus 1 000 UFC/g

Troy & Kerry (2010) han recopilado información sobre los factores que determinan e influyen en la calidad organoléptica y en la composición de la carne. Las características que se consideran importantes para establecer la calidad de la carne fresca son terneza, color, sabor, jugosidad, textura y capacidad de retención de agua (Cunniff, 1995). La estructura de los músculos y cambios bioquímicos de los tejidos con la calidad relativa y el valor de la carne han sido considerados por Rosenthal (1999). Troy & Kerry (2010) han revisado las normas de calidad, incluyendo los criterios microbiológicos para carne al menudeo. Considerando las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA1-1993 y los factores que influyen en la aceptación de los consumidores, se decidió hacer los análisis experimentales para determinar la calidad de la carne en la presente investigación. Por supuesto que muchos otros aspectos influyen en los consumidores como precio, publicidad, cultura, entre otros, pero si la calidad de la carne de bovino no tiene un nivel de calidad apropiado, los consumidores no la adquieren.

1.9. Microbiología de la carne

La ecología microbiana de los alimentos puede definirse como el estudio de la interacción entre los atributos químicos, físicos y estructurales del alimento, en este caso la carne, y la biota que constituye su población microbiana. En este sentido, es necesario entender claramente los principios básicos de la microbiología, además de tener sólidos conocimientos en ciencia y tecnología de alimentos y ser capaces de integrar ambas áreas para resolver los problemas que se presentan en un sistema complejo como la carne. El enfoque de ecología microbiana de alimentos en general ha sido desarrollado de manera excelente por la Comisión Internacional de Especificaciones de Alimentos (ICMSF, 2006), especialmente en relación con los microorganismos patógenos (ICMSF, 1996) y con productos alimenticios (ICMSF, 1998). El desarrollo microbiano en alimentos es un proceso muy complejo, gobernado por factores genéticos, bioquímicos y ambientales, que tienen impacto tanto en la biota como en el alimento que la contiene. Por otra parte, permite comprobar un cambio en el procesamiento de alimentos, como respuesta a las actitudes y tendencias en el consumo de los mismos especialmente en los de origen animal. No se puede dejar de señalar que los desarrollos que en biología molecular, ecología microbiana y tecnología de alimentos, cambiarán seguramente la apreciación sobre el desarrollo de los microorganismos en alimentos.

1.9.1. Clasificación de microorganismos en la carne

El tipo y cantidad de microorganismos presentes en los alimentos depende del medio de proveniencia original sin procesar o en su estado crudo, de las condiciones sanitarias bajo las cuales se manejaron y procesaron así como de las condiciones posteriores de empaque y almacenamiento. En general, todos los alimentos contienen un cierto número y tipo de microorganismos, que por razones de aspecto, salud pública y vida de anaquel, es importante que se mantengan en niveles bajos. Es de esperar que los alimentos que se producen y almacenan bajo buenas prácticas de manufactura, tengan un perfil microbiológico diferente de aquellos que se producen y almacenan bajo condiciones inadecuadas. En la carne se distinguen cuatro tipos de microorganismos que se clasifican de acuerdo con las funciones que realizan: tolerables, benéficos, patógenos y alterantes o de descomposición (Hui y col., 2006).

1.9.1.1. Microorganismos tolerables. Estos microorganismos no participan en alteraciones y descomposición de la carne y en general de los alimentos. Se trata, principalmente, de microorganismos que solo desarrollan una actividad metabólica muy baja o bien que no pueden multiplicarse en las condiciones que se encuentra la carne.

1.9.1.2 Microorganismos benéficos. Son aquellos que debido a su metabolismo influyen de manera positiva en las materias primas o productos terminados y que por ello contribuyen a mejorar o asegurar la calidad. Su acción puede afectar las características organolépticas, la seguridad del proceso de fabricación, la estabilidad de los productos y en ocasiones, mejorar la condición higiénica, para asegurar la calidad sanitaria. En el caso de los cortes de carne fresca este tipo de microorganismos no aplica.

1.9.1.3. Microorganismos patógenos. Estos microorganismos son indeseables ya que amenazan la salud del hombre, de los animales o de ambos. Conforman un grupo muy diverso y sus mecanismos de acción patógena son variados. La dosis mínima infectante no es un valor único universal, sino que varía incluso entre individuos aparentemente sanos según su estado nutricional, su estado físico, la condición de su sistema inmunológico, la acidez del jugo gástrico, el carácter de la flora intestinal y el tipo de vehículo del agente patógeno, entre otros. Los alimentos perecederos como la carne, contaminados con microorganismos patógenos, no muestran signos de alteración aun cuando algunas bacterias patógenas proliferen. La excepción se presenta en el caso de las cepas proteolíticas de *Clostridium botulinum*, que rápidamente producen mal olor poco después de haber entrado en actividad. Dentro de las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA1-1993 se encuentra *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*.

Las cepas de *Escherichia coli* forman parte de la biota normal anaeróbica facultativa de los tractos intestinales de humanos y animales de sangre caliente. La carne de bovino mal cocida es la principal causa de infección intestinal por *Escherichia coli* O157:H7. Esta bacteria es tolerante en ambientes ácidos y secos. Un porcentaje moderado del ganado vacuno que llega al matadero puede albergar este organismo enterohemorrágico y la evisceración y el desollado cuidadosos pueden limitar, pero no prevenir por completo, la contaminación de la canal. *Escherichia coli* O157:H7 crece cuando el almacenamiento en refrigeración o las condiciones de transporte son inadecuadas, e.g. temperaturas mayores de 7 °C, causando brotes de diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico. Por lo menos en 20 países se ha puesto de manifiesto en la carne molida (Rangel y col., 2005). Las incidencias señaladas de *E. coli* verotoxigénico también varían de unos estudios a otros, llegando algunos hasta el 63% de incidencias en la carne de mamíferos de abastecimiento. Al menos parte de esta variación se debe al empleo de diferentes métodos de aislamiento. Por esta razón se decidió evaluar el efecto del tratamiento por alta presión isoestática con *S. aureus*, *Salmonella* y *E. coli* también como complemento al presente proyecto de investigación.

1.9.1.3.1. *Staphylococcus aureus*. Los estafilococos son cocos anaerobios facultativos, Gram positivos y se presentan solos, en pares o racimos, no son móviles, ni esporulados. Su metabolismo es oxidativo/fermentativo, es catalasa-positivo y puede metabolizar una gran variedad de hidratos de carbono en condiciones aeróbicas, con la subsecuente liberación de ácido, principalmente ácido acético con pequeñas cantidades de bióxido de carbono; en condiciones anaerobias, el producto principal de la fermentación es el ácido láctico. Las tres condiciones necesarias para su óptimo desarrollo son: pH cercano a la neutralidad, temperatura alrededor de 30 °C y ausencia de microorganismos competitivos. Se puede encontrar en el medio ambiente y en alimentos con alto contenido proteínico y altas concentraciones de sal. Algunos biotipos son capaces de producir una toxina altamente termoestable; *Staphylococcus aureus* produce cinco toxinas que pueden provocar severas intoxicaciones en el hombre. La cantidad de *Staphylococcus aureus* necesaria para causar intoxicación no está del todo establecida. En la Norma Oficial Mexicana (NOM-115-SSA1-1994) se dice que es de 10⁶ UFC/g. Sin embargo, Administración de Alimentos y Fármacos (FDA por sus siglas en inglés), establece que una cantidad de *Staphylococcus aureus* patógeno, en el que se encuentra 10⁵ UFC/g, provoca intoxicaciones y que un nivel basal de aproximadamente un nanogramo de toxina es suficiente para causar síntomas (Jablonskin & Bohach, 2001). Los alimentos contaminados con *Staphylococcus aureus* no presentan diferencias perceptibles en cuanto a su apariencia, sabor y color. Entre las razones para determinar la presencia de este microorganismo están: confirmar su presencia como agente causal de una enfermedad de origen alimentario, determinar si un alimento o ingrediente es fuente potencial de este microorganismo enterotoxigénico y demostrar la contaminación postproceso la cual es usualmente debida a contacto humano o con superficies inadecuadamente sanitizadas.

Los alimentos sujetos a contaminación postproceso con tipos enterotoxigénicos de *Staphylococcus aureus* representan un riesgo por la ausencia de biota competitiva que normalmente restringe su crecimiento y la producción de enterotoxinas. Estos alimentos se vuelven más peligrosos, si además son objeto de un inadecuado manejo o son mantenidos a temperaturas de conservación inapropiadas. Los alimentos perecederos tales como: carnes crudas y procesadas, ensaladas, productos de pastelería y productos de leche, son los más comúnmente asociados con esta intoxicación (Hui et al. 2006).

1.9.1.3.2. *Salmonella spp.* Son bacilos Gram negativos anaerobios facultativos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. Metabolizan nutrientes por las vías fermentativa y respiratoria. Crecen óptimamente a 37 °C y pueden catabolizar la D-glucosa y otros hidratos de carbono con productos de ácido y gas. Son oxidasa y catalasa negativos, crecen en citrato como única fuente de carbono,

generalmente producen ácido sulfhídrico, descarboxilan la lisina y la ornitina y no hidrolizan la urea. Aunque los miembros de este género son capaces de moverse por medio de flagelos peritricos, existen variantes no móviles. Se ha demostrado que la ingesta de solamente alguna célula de *Salmonella* puede ser infecciosa, en humanos la dosis fluctúa entre 1 a 10 células. Se encuentran en alimentos con alto contenido de grasa (Hui et al. 2006).

1.9.1.3.3. *Escherichia coli*. Antes de describir *Escherichia coli* se menciona un grupo de microorganismos llamado Coliformes ya que pertenece a los de este tipo y debido a que un gran número de enfermedades son transmitidas por vía fecal-oral utilizando como vehículo los alimentos, es necesario contar con estos que además funcionan como indicador de contaminación fecal. Estos deben ser constantes, abundantes y exclusivos de la materia fecal, deben tener una sobrevivencia similar a la de los patógenos intestinales y deben ser capaces de desarrollarse extra intestinalmente. Cuando los coliformes llegan a los alimentos, no sólo sobreviven, sino que se multiplican; cuando los alimentos han recibido algún tratamiento estos microorganismos se utilizan como indicadores de malas prácticas sanitarias. Este grupo está formado por *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citobacter* y *Klebsiella*.

Escherichia coli es un bacilo corto Gram negativo que se encuentra clasificado dentro de la familia Enterobacteriaceae (bacteria entérica), existe como comensal en el intestino delgado de humanos y animales. Sin embargo, existen algunas cepas patógenas que provocan enfermedades diarreicas. Estas se clasifican con base en las características que presentan sus factores de virulencia única, cada grupo provoca enfermedades mediante un mecanismo diferente. Se sabe que sus propiedades de adherencia a las células epiteliales de los intestinos grueso y delgado son codificadas por genes situados en plásmidos. De manera similar las toxinas son mediadas por plásmidos o fagos (Jefferies y col., 2012).

1.9.1.4. Microorganismos de descomposición. Son aquellos microorganismos indeseables no patógenos, cuyo metabolismo causa alteraciones en los productos que, finalmente, afectan su estética y vida de anaquel. Estos microorganismos pueden causar las siguientes alteraciones en la carne:

- Mucosidad en la superficie: la temperatura y la humedad influyen en el tipo de microorganismo que la produce.
- Cambios en el color de los pigmentos de la carne: el color rojo puede cambiar a manchas verdes, marrón o gris como resultado de la presencia de compuestos oxidados.
- Cambios en la grasa: oxidación de grasa no saturada en aire y las bacterias pueden causar rompimiento o aceleración de esta.
- Fosforescencia: es poco común y es causada por bacterias.

- Sabores y olores desagradables: es el resultado del crecimiento de microorganismos sobre la superficie y a la producción de compuestos volátiles, que causan olores y sabores desagradables, una superficie viscosa-pegajosa y decoloración de la carne.

La superficie de la carne fresca tiende a contener microorganismos aerobios estrictos y anaerobios facultativos y estrictos. Los géneros bacterianos, de mohos y las levaduras encontrados con mayor frecuencia en las carnes frescas se presentan en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2. Géneros bacterianos, de mohos y de levaduras encontrados en carne fresca.

Bacterias Gram +	Bacterias Gram -	Mohos	Levaduras
<i>Bacillus</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Candida</i>
<i>Brochothrix</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Cryptococcus</i>
<i>Carnobacterium</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Debaryomyces</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhodotorula</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Citribacter</i>	<i>Geotrichum</i>	<i>Trichosporon</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Monascus</i>	
<i>Kurthia</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Monilia</i>	
<i>Lactococcus</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Mucor</i>	
<i>Lactobacillus</i>	<i>Hafnia</i>	<i>Neurospora</i>	
<i>Leuconostoc</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Penicillium</i>	
<i>Listeria</i>	<i>Pantoea</i>	<i>Rhizopus</i>	
<i>Microbacterium</i>	<i>Proteus</i>	<i>Spotrichum</i>	
<i>Micrococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Thamnidium</i>	
<i>Pediococcus</i>	<i>Psychrobacter</i>		
<i>Staphylococcus</i>	<i>Salmonella</i>		
	<i>Serratia</i>		
	<i>Shewanella</i>		
	<i>yersenia</i>		

(Hui et al. 2006)

Las carnes frescas que se mantienen en refrigeración, son alteradas por bacterias principalmente por *Pseudomonas* (*P. fragi*, *P. lundensis* y *P. fluorescens*); la principal característica de la alteración es la formación de colonias visibles viscosas y de malos olores, en condiciones de menor actividad de agua son pequeñas y discretas. Las enterobacterias psicrótrofas y *Brochothrix thermosphacta* sólo constituyen

una proporción pequeña de la biota alternante. Cuando la carne es envasada al vacío experimentan una alteración prolongada en el refrigerador, con frecuencia los microorganismos predominantes son las bacterias del ácido láctico (Jay y col., 2003).

Las malas o inadecuadas prácticas de manejo de la carne pueden provocar la presencia de cantidades más altas de microorganismos. Sin embargo, la presencia de pequeñas cantidades en la carne no significa necesariamente que se adoptaron buenas prácticas de manejo, debido a que el procesamiento puede reducir el número de cierto tipo de microorganismos que no reflejan estas prácticas, y sí pueden afectar la vida de anaquel y la calidad sanitaria de la carne. Por ello es necesario hacer una cuenta general de estos microorganismos, representada en este caso por la cuenta en placa de mesófilos aerobios, así como de algunos específicos de la carne como los proteolíticos representativos y verificar el grado de alteración por medio de los productos que se obtienen del metabolismo de estos microorganismos.

En el caso de la carne, es importante considerar que las partes internas de los tejidos animales están generalmente estériles y que es teóricamente posible producir muchos alimentos cárnicos libres de microorganismos. En los productos como la carne molida (NOM-034-SSA1-1993) se produce normalmente una alta cuenta microbiana en comparación con un corte entero como el filete, debido simplemente a la reducción de tamaño.

Como regla general, un alimento que contenga una población numerosa de microorganismos tendrá una vida útil más corta que el mismo alimento que contenga menor número de microorganismos; por lo que se lleva a cabo en este estudio una cuenta total en placa. Como algunos tipos de microorganismos tienen un mayor impacto en las características organolépticas debido a la presencia de diferentes enzimas que actúan sobre los constituyentes del alimento, se decidió realizar un análisis de dos microorganismos de gran impacto sobre la carne, *Pseudomonas* y bacterias del ácido láctico (BAL).

1.9.1.4.1. *Pseudomonas*. Es un género de bacilos rectos o ligeramente curvados, Gram negativos, oxidasa positivos, aerobios estrictos aunque en algunos casos pueden utilizar el nitrato como aceptor de electrones. El catabolismo de los glúcidos se realiza por la ruta de Entner-Doudoroff y el ciclo de los ácidos tricarbóxicos. Algunos miembros del género son psicrófilos, mientras que otros sintetizan sideróforos fluorescentes de color amarillo-verdoso con gran valor taxonómico. Es común la presencia de plásmidos y no forman esporas (Hui et al. 2006).

1.9.1.4.2. Bacterias del ácido láctico (BAL). Son un grupo de bacterias Gram positivas anaerobias facultativas, denominadas así debido a que la mayoría de sus miembros convierten lactosa y otros monosacáridos en ácido láctico. Normalmente son inocuas e incluso necesarias. Habitan en diferentes

sitios del cuerpo humano y en el de otros animales, por ejemplo, están presentes en el tracto gastrointestinal. La producción de ácido láctico hace que su ambiente sea ácido, lo cual inhibe el crecimiento de bacterias dañinas. Muchos BAL son los únicos seres vivos que no requieren hierro para vivir y tienen una tolerancia extremadamente alta al peróxido de hidrógeno. Muchos son inusuales en el sentido de que operan usando un metabolismo homofermentativo, es decir, sólo producen ácido láctico a partir de azúcares, y son aerotolerantes a pesar de la ausencia de cadena respiratoria (Hui et al. 2006).

1.9.2. Cuenta en placa por extensión de superficie

Cuando se requiere investigar el contenido de microorganismos viables en un alimento, la técnica comúnmente utilizada es la cuenta en placa. Esta técnica no pretende detectar todos los microorganismos presentes, pero el medio de cultivo, las condiciones de temperatura y la presencia de oxígeno, permiten seleccionar grupos de bacterias cuya presencia es importante en diferentes alimentos. Por ejemplo, las bacterias mesofílicas aerobias o mesófilos aerobios son un indicador general de la población que puede estar presente en un alimento y por lo tanto, de la higiene con que éste ha sido manejado. Este grupo en particular, se determina en la mayor parte de los alimentos, pero para algunos productos, también es importante determinar la presencia de bacterias termofílicas y psicofílicas para predecir la estabilidad del producto bajo diferentes condiciones de almacenamiento. La técnica básica es la misma, pero cambian las condiciones de incubación, medios de cultivo y algunos otros detalles. Si se modifican las condiciones de incubación o se somete la muestra a algún tratamiento previo, el método puede aplicarse también a la detección de otros grupos como anaerobios o esporulados, desde luego, con la adecuada selección de medios de cultivo.

La técnica se basa en contar las unidades formadoras de colonias (UFC) presentes en un gramo o mililitro de muestra. Se considera que cada colonia se desarrolla en el medio de cultivo de elección después de un cierto tiempo de incubación a la temperatura adecuada, proviene de un microorganismo o de un agregado de ellos, de la muestra bajo estudio; ese microorganismo o microorganismos son capaces de formar la colonia, es decir una UFC. Para que las colonias puedan contarse de manera confiable, se hacen las diluciones decimales necesarias de la muestra, antes de ponerla en el medio de cultivo. Se consideran representativas aquellas cajas de cultivo que tienen un número de colonias dentro del intervalo de sensibilidad del método el cual es de 25 a 250 UFC. Cuando dos placas de una dilución contienen un número de colonias características dentro del intervalo de sensibilidad del método, se promedian los números y se multiplica por el inverso de la dilución (Camacho y col., 2009).

1.10. Bases volátiles totales (BVT)

Las proteínas y aminoácidos de los alimentos pueden sufrir cambios bioquímicos que las transforman en aminas biógenas. Las aminas biógenas pueden formarse por la actividad enzimática de los tejidos alimenticios o de microorganismos que los contaminan. Cuando se producen ciertas concentraciones de aminas en alimentos frescos, se considera que ese alimento no está en buenas condiciones para consumirlo. Aunque esta correlación no siempre existe, ya que no todos los microorganismos que contaminan alimentos pueden formar aminas, sí proporciona un indicio del grado de frescura y seguridad del alimento.

Las aminas biógenas son compuestos caracterizados por la presencia de uno o más grupos amino. Se producen durante el paso final de la hidrólisis de las proteínas por descarboxilación de los aminoácidos libres por medio de diferentes microorganismos (bacterias, hongos, levaduras) que se presentan en procesos de fermentación o putrefacción. Ocurren tanto en materias primas de origen vegetal como animal con altas concentraciones de proteína. En la carne de bovino las principales son la histamina, cadaverina, putresina y tiramina, que provienen de la histidina, lisina, ornitina y tirosina, respectivamente.

Los factores que favorecen el desarrollo de aminas biógenas incluyen:

- a) Condiciones favorables para el desarrollo de microorganismos.
- b) Disponibilidad de aminoácidos libres.
- c) Presencia de las enzimas y condiciones que permiten su desarrollo.
- d) Temperaturas elevadas durante el procesamiento.
- e) Tiempo de almacenamiento previo al procesamiento.

En cuanto a los niveles críticos de aceptación de aminas biógenas individuales no existe criterio universal para definir sus intervalos en carne. Sin embargo, en el caso de la histamina en materias primas como harina de pescado, se consideran críticos valores superiores a 500 ppm; aunque existen discrepancias entre Europa (máximo 300 ppm) y Sudamérica (1000 ppm). Otras aminas como la tiramina y la feniletamina pueden ser tan o más tóxicas que la histamina. Hace falta aún determinar el nivel crítico de aminas biógenas por índice de toxicidad relativo para las diferentes especies y fases de producción y valorar de modo independiente los niveles de enzima degradadora de las aminas biógenas como las enzimas mono amino oxidasa (MAO) y diamino oxidasa (DAO). Cuando hay gran concentración de aminas en un alimento pueden darse síntomas de toxicidad, como dolor de cabeza,

enrojecimiento de la piel y otros. Hay que ser cuidadoso con el tipo de alimentos que se consumen para no consumir una gran cantidad de aminos biógenas que pueden acarrear problemas de salud. La formación de aminos biógenas está más relacionada con bacterias mesófilas que psicrófilas. Las bajas temperaturas no impiden el desarrollo de bacterias con actividad descarboxilasa, pero sí lo pueden retrasar. El incremento de la concentración de aminos biógenas coincide con la aparición del mal olor en el pescado y también tiene buena correlación con los valores de bases volátiles totales, trimetilaminas, hipoxantina y pH (Ruiz-Capillas & Jimenez-Colmenero, 2004).

El grado de descomposición puede determinarse por medio de la técnica de bases volátiles totales (BVT) para saber si un producto es fresco o no. El método que recomienda la American Meat Science Association (AMSA, 1995) se basa en un procedimiento de semimicrodestilación. Los extractos o las soluciones se hacen alcalinos ya sea con hidróxido de sodio o carbonato de magnesio. Las bases se destilan por arrastre de vapor y se reciben en medio ácido. En general, la prueba incluye la medición de trimetilamina, debida al deterioro por crecimiento de bacterias, dimetilamina, debida al deterioro por la acción de enzimas autolíticas, amoníaco (NH₃), debido a la desaminación de aminoácidos y catabolitos de nucleótidos, y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados con el deterioro. La mayor parte de la res se puede considerar aceptable si los valores no exceden de 16.5 y 19.7 mg/g de muestra.

1.11. Índice de acidez (IA)

El ácido láctico se produce a partir de ácido pirúvico con la participación de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) en procesos de fermentación (Figura 1.5).

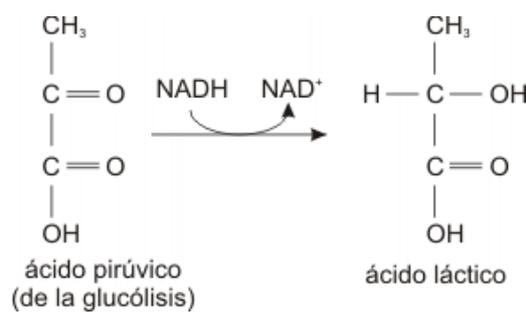


Figura 1.5. Producción de ácido láctico a partir de ácido pirúvico (Fennema, 2010).

El anión piruvato es un compuesto orgánico clave en el metabolismo. Es el producto final de la glucólisis, una ruta metabólica universal en la que la glucosa se escinde en dos moléculas de piruvato y se origina energía en forma de dos moléculas de adenosin trifosfato (ATP). El ácido pirúvico así

formado puede seguir dos caminos como se muestra en la Figura 1.6. Si hay suficiente suministro de oxígeno, el ácido pirúvico es descarboxilado en la matriz de la mitocondria por el complejo enzimático piruvato deshidrogenasa produciendo CO_2 y acetil coenzima A, lo que representa el inicio de una serie de reacciones llamada ciclo de Krebs, seguida de la fosforilación oxidativa. Si no hay oxígeno en cantidad suficiente o el organismo es incapaz de continuar con el proceso oxidativo, el piruvato sigue una ruta anaeróbica; la fermentación. Los animales son capaces de realizar la fermentación láctica cuyo producto es el ácido láctico.

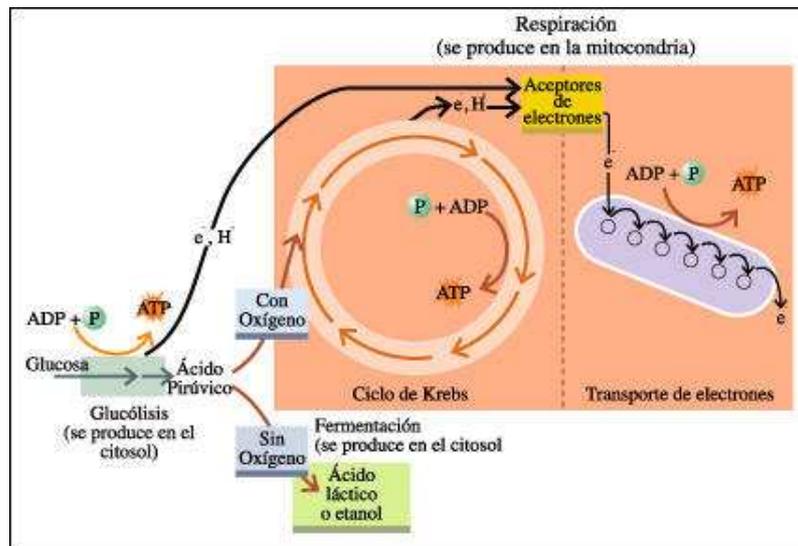


Figura 1.6. Esquema global de oxidación de glucosa.

(http://www.fisicanet.com.ar/biologia/metabolismo/06_glucolisis.php-febrero/2012)

1.12. pH

El pH del músculo animal vivo es cercano a 7.0. En los primeros momentos después del sacrificio, se inhibe el suministro de oxígeno lo cual provoca la producción de ácido láctico después de las 24 horas *postmortem* y el pH es alrededor de 5.5; entre 5.4 y 5.8. Esto evita la proliferación de gérmenes y ayuda a prolongar la vida de anaquel. Las bacterias del ácido láctico (BAL) producen este compuesto por fermentación. El crecimiento posterior de microorganismos hace que el pH aumente debido a la formación de compuestos aminados resultantes de la putrefacción. La proporción de microorganismos causantes de la descomposición proteolítica y la lipolítica de la carne refrigerada, incluye principalmente a las *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Psychrobacter* (Kerry y col., 2002). Las *Pseudomonas* son los principales responsables de la descomposición de carnes refrigeradas. Sin embargo, no producen aminas biógenas, con excepción de los géneros que no se encuentran en carnes sino en ambientes marinos;

P. cepacia y *P. maltophila*. Las enterobacterias son los otros microorganismos productores de aminas en carnes además de los lactobacilos descarboxilantes lo que hace que se incrementen las BVT.

El pH depende de varios factores tanto *antemortem* como *postmortem*, tiempo de almacenamiento y manejo de la canal. El pH de la carne cruda varía entre 5.5 y 7.2, dependiendo de la cantidad de glucógeno presente al efectuarse el sacrificio y de los cambios sufridos después de la degradación del glucógeno. A pH 5.5, pH normal de la carne después de la rigidez cadavérica, las proteínas están en el punto isoeléctrico lo que evita retener agua en las fibras musculares y por lo tanto se produce exudación de la carne con textura suave y color pálido (PSE). A pH 6.0 o mayor, las proteínas están fuera del punto isoeléctrico y absorben cantidades de agua dando la apariencia de sequedad, la luz refleja poco, por lo que el color de la carne es rojo oscuro; y presenta una dureza debido a la turgencia que adquieren las fibras musculares.

Por otro lado, el deterioro microbiano es más fácil a pH alto, y aumenta durante el almacenamiento debido a la formación de compuestos aminados resultantes de la putrefacción. Un pH más alto favorece el desarrollo de microorganismos. Un pH más bajo lo frena y a veces actúa selectivamente, permitiendo por ejemplo, sólo el desarrollo de levaduras (Hui et al. 2006).

En el presente trabajo de investigación se hizo el análisis microbiológico y la determinación de las BVT y el ácido láctico así como el pH, entre otros, para obtener información acerca de la evolución con el tiempo de estos indicadores y su relación para conocer el estado de la carne con un enfoque orientado al consumidor.

1.13. Capacidad de retención de agua (CRA)

Las proteínas pueden sufrir cambios en su funcionalidad lo que hace que pierdan su capacidad de ligar agua o agregarse provocando la pérdida de jugosidad de la carne. Esto se puede estimar pesando la carne fresca recién comprada y siguiendo el cambio con el tiempo de su peso ya sea cada semana o cada quince días. También al centrifugar la carne (2000 rpm 10 minutos) y medir la cantidad de exudado forzado a salir del tejido (Fernandez-Martín y col., 2000).

1.14. Hipoxantina

Los cambios debidos a la degradación molecular como la de los nucleótidos permiten evaluar la frescura de la carne y sus derivados. La concentración de ATP y de sus productos de degradación progresa a diferente velocidad en la medida en que las condiciones ambientales las afectan. Dentro de los

principales indicadores se encuentran el ATP, el inosin monofosfato (IMP) y la hipoxantina. Un aumento en la concentración de hipoxantina a expensas de los nucleótidos indica una pérdida de la frescura (Figura 1.7) (Lehninger, 2005).

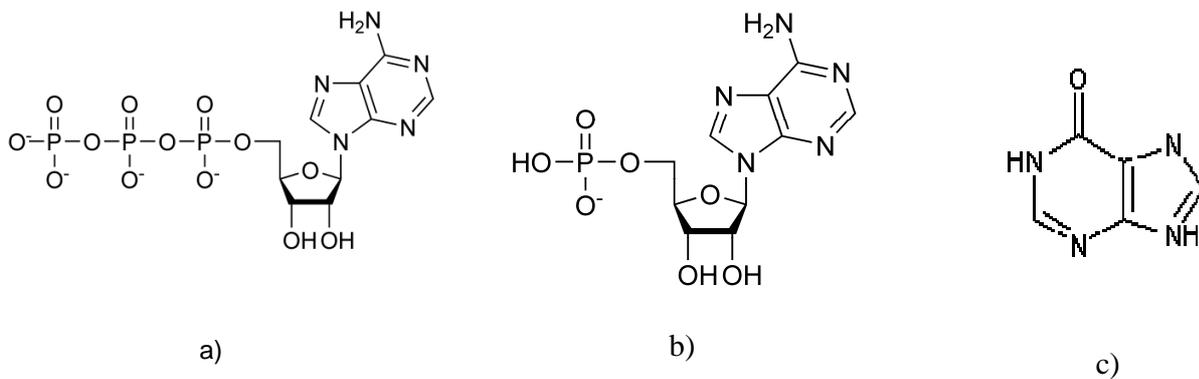


Figura 1.7. a) Adenosin trifosfato (ATP), b) Inosin monofosfato (IMP) y c) Hipoxantina.

1.15. Color

El color en la carne es el primer atributo que los consumidores observan y que afecta directamente su decisión de compra. Los consumidores esperan una apariencia uniforme dentro de un grupo similar de productos cárnicos, por ejemplo contenido de grasa, y relacionan cualquier diferencia de color dentro de productos similares con la calidad del producto. Por lo tanto cualquier proceso que pueda afectar el color provoca el desagrado del consumidor (O'Sullivan y col., 2003). Cualquier diferencia en el almacenamiento o manipulación de la carne requiere una gran investigación previa para maximizar las aplicaciones comerciales y evitar cambios en los atributos sensoriales a los cuales el consumidor está habituado. El color es el resultado de la percepción de la luz después de haber interactuado con un objeto, es una cualidad sugestiva que depende de la intensidad de la luz, del objeto sobre el que incide y del buen funcionamiento del órgano de la vista. La medida del color implica la asignación de números que representan atributos del fenómeno psicológico relacionándolo con el fenómeno físico; flujo luminoso, longitud de onda y otras, que se pueden determinar de forma instrumental (Escamilla Morón, 2006). El ojo humano percibe longitudes de onda de 400 a 500 nm para el color azul, 500 a 600 para el verde y amarillo y de 600 a 800 para el rojo como se muestra en la Figura 1.8.

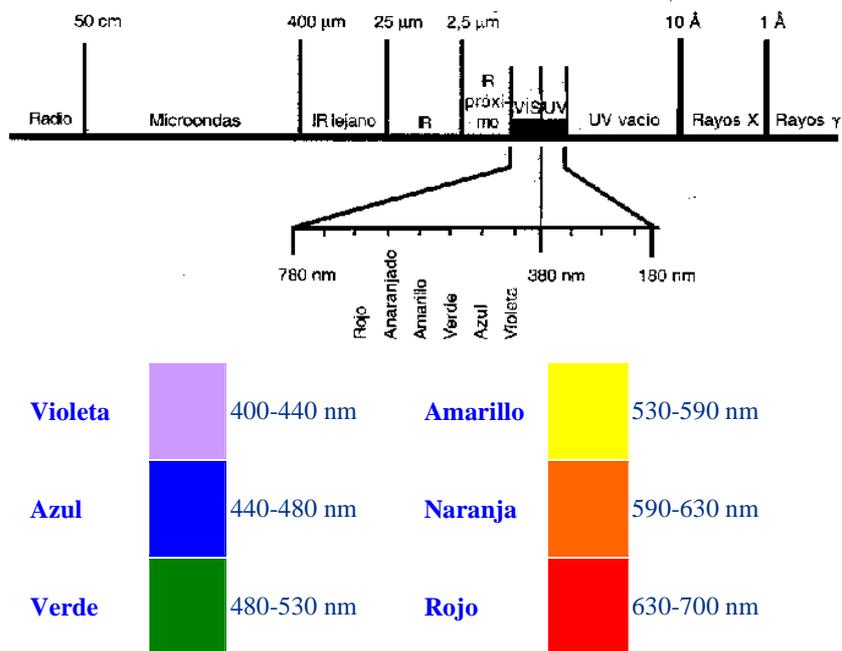


Figura 1.8. Espectro electromagnético (Fennema, 2010).

Al conjunto de estas ondas se le llama espectro visible, el cual comprende las longitudes de onda de 400 a 700 nm. La percepción del color se ve afectada por la composición física y química del objeto, la composición espectral de la luz y la sensibilidad del observador. La luz puede ser refractada, reflejada, transmitida o absorbida por un objeto, y puede variar en tres dimensiones: tono (hue, h^0), lo que el consumidor llama color, luminosidad, i.e. relación entre la luz absorbida y la reflejada, también llamado brillo de un objeto y la saturación que se refiere a la pureza del color (Andrés y col., 2004). El colorímetro es un instrumento analítico cuyo funcionamiento está basado en la espectrofotometría que permite cuantificar diferencias en coloración no perceptibles por el ojo humano y tiene una amplia aplicación en la cuantificación de variaciones de color en alimentos (O'Sullivan y col., 2003). En la industria de alimentos el método más popular de medición de color es el $L^*a^*b^*$ o también conocido como el sistema CIELAB, por sus siglas en francés (Commission Internationale de l'Eclairage), o Comisión Internacional de la Iluminación, el cual se basa en fuentes de iluminación estándar (D_{65}) y observador (10°). El espacio de color CIELAB es un sistema tridimensional esférico definido por tres coordenadas colorimétricas, L^* , a^* y b^* , que son magnitudes adimensionales, como se muestra en la Figura 1.9. La coordenada L^* recibe el nombre de claridad o luminosidad y toma valores entre 0 y 100. Las coordenadas colorimétricas a^* y b^* , forman un plano perpendicular a la luminosidad. a^* define la

desviación del punto acromático correspondiente a la luminosidad; es positiva hacia el rojo y negativa hacia el verde. b^* es positiva hacia el amarillo y negativa hacia el azul.

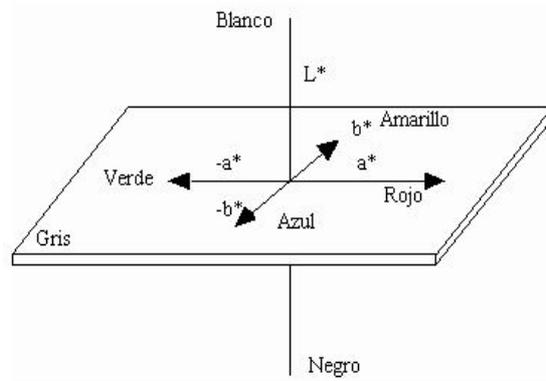


Figura 1.9. Espacio de color CIELAB (Escamilla Morón, 2006).

El color de la carne está determinado por los pigmentos presentes en ella. Estos pueden ser los componentes biológicos como los carotenos y los hemopigmentos que se acumulan o se sintetizan en el organismo *antemortem* o se pueden generar pigmentos por daños durante su manejo o por condiciones de proceso inadecuadas. Se pueden encontrar también los pigmentos *postmortem* producidos por reacciones enzimáticas o no enzimáticas y los pigmentos usados como colorantes naturales o artificiales que se pueden añadir a productos cárnicos (Hui y col., 2006). El color rojo de la carne se debe principalmente a los hemopigmentos como la hemoglobina y la mioglobina. Sin embargo, también existen en pequeñas concentraciones diferentes sistemas enzimáticos cuyas coenzimas o grupos prostéticos tienen propiedades cromóforas, e.g. peroxidasas, citocromos y flavinas. La mioglobina es el pigmento más importante de la carne. La pigmentación del músculo estriado varía en intensidad de acuerdo con la cantidad de pigmento y de tonalidad, según el grado de oxidación del grupo hemo como se muestra en la Figura 1.10.

Los espectros de reflexión de los distintos estados de la mioglobina coinciden en determinadas longitudes de onda. A partir de estos se puede calcular la relación de cada uno de los estados de la mioglobina. A 525 nm se encuentra el punto isosbético para los tres estados de la mioglobina; metamioglobina, oximioglobina y desoximioglobina. A 474 nm coinciden la metamioglobina y la oximioglobina. A 572 nm la desoximioglobina y la oximioglobina y por último a 610 nm la desoximioglobina y la metamioglobina.

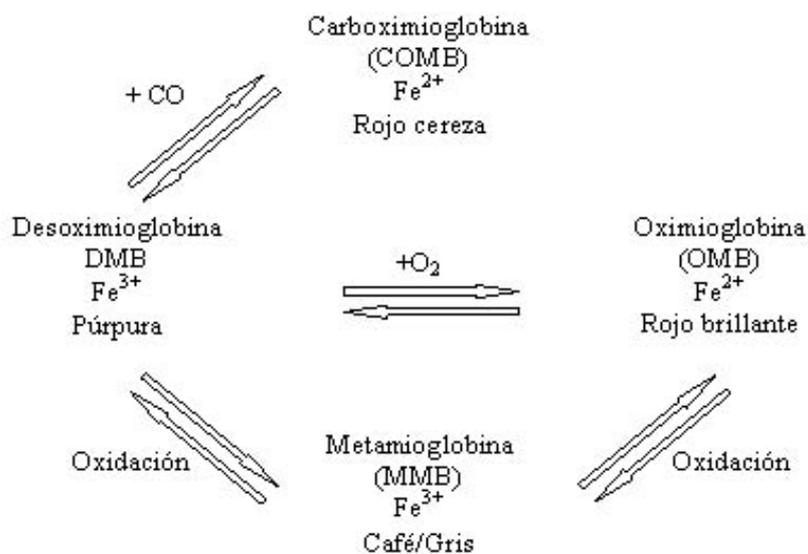


Figura 1.10. Ciclos de color presentes en la mioglobina.
http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642008000600007&script=sci_arttext-febrero/2012

1.16. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de los alimentos son un factor importante en el control de calidad, ya que de ellas depende en buena medida la aceptación de un alimento. Esta aceptación puede estimarse por métodos sensoriales (sentidos), físicos y químicos. Los métodos instrumentales están basados en la determinación de cantidades físicas como la fuerza, la deformación y el tiempo y son por lo tanto fundamentales. En la carne se usa la fuerza de corte la cual se determina con la celda Warner Bratzler (WB) y el análisis de perfil de textura (TPA por sus siglas en inglés) (Rosenthal, 1999).

1.16.1. Terneza

La terneza es la cualidad de la carne de dejarse cortar y masticar, con mayor o menor facilidad, antes de la deglución y representa la resistencia mecánica del alimento (Pellufo y Rodríguez, 2002). Esta característica decide el valor comercial de la carne (Miller et al, 1995). Se ha determinado la fuerza de corte tanto en carne cruda como en carne cocida y se ha observado que dicha fuerza es mayor para la carne cocida pero cortarla toma menos tiempo que en el caso de la carne cruda (Kerth y col., 2003). Para determinar esta propiedad se usa la celda de corte Warner–Bratzler.

1.16.2. Análisis de perfil de textura (TPA)

Esta prueba consiste en aplicar dos ciclos de compresión consecutivos como se observa en la Figura 1.11. De ella se obtienen las siguientes propiedades:

Dureza	Es la fuerza máxima en el primer ciclo de compresión. La dureza no tiene que ocurrir en el punto de compresión más profundo, aunque normalmente ocurre así para la mayoría de los productos.
Fractura	No todos los alimentos presentan fractura, e.g. la carne, pero cuando lo hacen es el punto en el que se produce un pico significativo y a continuación decae la fuerza durante la primera compresión. A esta propiedad se le denomina a veces fragilidad.
Adhesión	Es el trabajo requerido para jalar el alimento desde su superficie. Se calcula como el área en la cual se presentan fuerzas negativas (Área 3 en la Fig. 1.11).
Cohesión	Es el trabajo necesario para romper las fuerzas internas que mantienen unido al alimento. Se calcula como el área de trabajo durante la segunda compresión dividida entre el área de trabajo durante la primera compresión. Área bajo la curva 2/Área bajo la curva 1 en la Fig. 1.11.
Elasticidad	La elasticidad es la recuperación de un producto deformado durante la primera compresión. Se calcula de varias maneras, pero la más frecuente es por la distancia de la máxima altura detectada en la segunda compresión (Longitud 2 en la Fig. 1.11), dividida entre la distancia original de compresión (Longitud 1 en la Fig. 1.11). En este caso es adimensional. En el equipo TA-XT2 se calcula de esta manera. Sin embargo, la definición original de elasticidad utiliza la Longitud 2 solamente y las unidades serían mm u otras unidades de longitud. En el equipo Sintech se calcula de esta manera. Al expresar la elasticidad como una proporción de su altura original, se pueden hacer comparaciones entre un conjunto más amplio de alimentos y productos.
Masticación	La masticación sólo se aplica para los productos sólidos y se calcula como el producto de Dureza*Cohesión*Elasticidad definida esta última como Longitud 1/Longitud 2. Si se reporta la masticación no se reporta la gomosidad ya que un alimento no podría ser al mismo tiempo un sólido y un semi-sólido.
Gomosidad	La gomosidad sólo se aplica a productos semi-sólidos y se calcula como el producto Dureza*Cohesión. Si se reporta la gomosidad no se reporta la masticación.
Resiliencia (Resilience)	La resiliencia es la capacidad de un alimento para "recuperarse". Es la elasticidad instantánea, ya que la resiliencia se obtiene al ir retirando la primera compresión midiendo la recuperación del alimento. Se calcula como el trabajo al ir retirando la fuerza de la primera compresión (Área 5 en la Fig. 1.11) entre el trabajo al ir comprimiendo el material (Área 4 en la Fig. 1.11) en el primer ciclo. Con una sola compresión se puede obtener la resiliencia, pero la restricción es que la velocidad de compresión sea igual a la de descompresión.

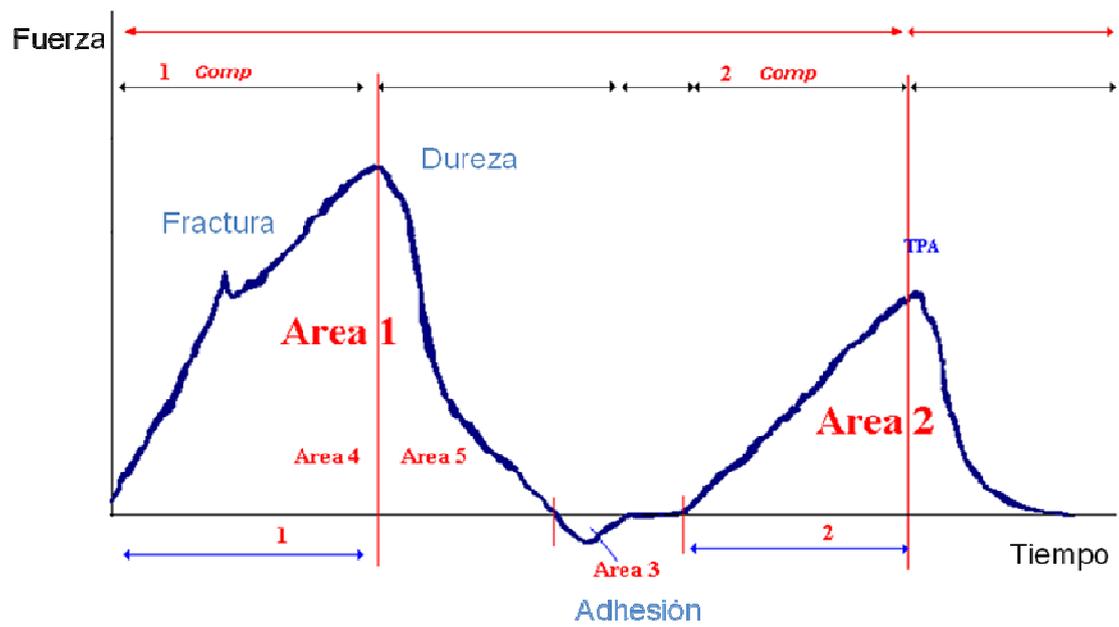


Figura 1.11. Parámetros medibles del análisis de perfil de textura (Rosenthal, 1999).

CAPÍTULO II

ALTA PRESIÓN ISOESTÁTICA

2.1. Introducción

La demanda de los consumidores por alimentos seguros, poco procesados y carentes de aditivos, ha justificado la investigación sobre el uso de la alta presión isoestática (API) en el procesamiento de alimentos. Se ha sugerido un intervalo de 100 a 1000 MPa para probar los efectos de la API en alimentos (Norton & Sun, 2008). Los objetivos de alta prioridad incluyen la muerte de microorganismos tanto patógenos como degradantes, el control de la actividad enzimática, la alteración de componentes macromoleculares y los cambios de fase.

La tecnología de alta presión utiliza comúnmente agua como medio para aplicar presión y por ello el tratamiento se denomina alta presión hidrostática (APH). Es importante destacar que la presión aplicada se transmite de manera isoestática, es decir, uniforme y prácticamente instantánea en todos los puntos del alimento, independientemente de su composición, tamaño y forma. Por ello también suele denominársela alta presión isoestática (API). La deformación del producto se evita a pesar de estar sometido a tan altas presiones por períodos de segundos hasta horas y lo hace muy homogéneo y prácticamente ausente de zonas sobre tratadas. Una vez alcanzado el nivel de presión deseado, no es necesario aportar más energía para mantener el alimento a tal presión ya que no se producen pérdidas o descompresiones (Sorenson y col., 2011).

2.2. Antecedentes de la API

El uso de la alta presión isoestática (API) o hidrostática (APH) para conservar alimentos se conoce desde finales del siglo XIX. La primera aplicación de alta presión en un alimento se llevó a cabo en leche y se demostró la reducción de la población microbiana (Hite, 1899). Los problemas tecnológicos propios de la manipulación a presiones superiores a 2000 atm constituyeron durante mucho tiempo un freno para el desarrollo de esta técnica, pero gracias a los avances alcanzados durante los años setenta y ochenta en la utilización de técnicas de alta presión en la industria cerámica y metalúrgica se abrió la posibilidad de tratar alimentos por este método a escala industrial (Torres & Velázquez, 2005).

En 1914 se estudió el efecto de la alta presión sobre la clara de huevo. Se observó la desnaturalización proteínica irreversible a partir de 300 MPa, la cual se intensificó con el aumento de la presión y el

tiempo de tratamiento (Bridgman, 1914). En la década de los ochenta, Japón fue pionero en el desarrollo de la alta presión para su uso en la industria alimentaria. La mermelada fue el primer producto comercializado en abril de 1990 por la compañía japonesa Meidi-Ya Food Co. A este producto siguieron otros y con ello se logró un interés creciente en los consumidores, ya que esta técnica produce características organolépticas deseables y una apariencia natural con un mínimo de tratamiento. Estados Unidos inició en 1998 la comercialización de guacamole tratado por alta presión. Países como Francia y España adoptaron posteriormente también esta tecnología. El tratamiento por API permite obtener productos casi idénticos a los originales conservando componentes como vitaminas así como sabores, aromas y colores razón por la que los consumidores los buscan y los prefieren. Hace ya tiempo que se comercializan muchos productos tratados con esta tecnología en Japón y en menor medida en Estados Unidos y Europa (Sorenson y col., 2011).

2.3. Sistemas de presurización

Existen tres procesos básicos en los que se usan altas presiones en combinación o no con tratamiento térmico (Cano & Ancos, 2005). En la industria se emplean según la aplicación que se requiera. En los sistemas de presión isoestática en frío (PIF), los materiales en polvo se colocan en un molde de elastómero y se someten a API. Las presiones aplicadas están en el intervalo de 50 a 600 MPa y se aplican a temperatura ambiente con un tiempo de tratamiento entre 1 y 30 minutos. El volumen de la cámara de presurización puede ser de algunos cm^3 hasta más de 1 m^3 . Esta técnica se empleó inicialmente en la industria de metales, cerámica, carbón, grafito y plásticos y promete ser la de mayor aplicación en la industria de alimentos. Los otros dos sistemas se diferencian básicamente por el intervalo de temperaturas aplicadas. Así, los sistemas de presión isoestática caliente (PIC) utilizan temperaturas de unos $2000 \text{ }^\circ\text{C}$ y se usa un gas como medio para aplicar presión (Akaishi & Yamaoka, 2000).

2.4. Fundamento de la API

La utilización de altas presiones se rige fundamentalmente por dos principios:

- a) La ley de Pascal. *Una presión externa aplicada a un fluido confinado se transmite de forma uniforme e instantánea a través de todo el material*, es decir, en todas las direcciones del material tratado por alta presión dando por resultado un proceso isoestático.

b) El principio de Le Chatelier. *Si un sistema en equilibrio es perturbado por un cambio de temperatura, presión o concentración de uno de sus componentes, el sistema desplazará su posición de equilibrio de modo que se contrarreste el efecto de la perturbación*, es decir, la APH favorece las reacciones que implican una disminución de volumen y retarda aquellas en las que el volumen aumenta. El comportamiento de las proteínas bajo altas presiones está regido por este principio, por lo que tiende al equilibrio. Las interacciones moleculares no covalentes se verán desfavorecidas por la presión. La solvatación de grupos cargados, la formación de interacciones electrostáticas, las interacciones hidrofóbicas, presentan un incremento de volumen y por ello son desfavorables con la aplicación de alta presión. Los puentes de hidrógeno y las interacciones entre anillos aromáticos, son favorecidos por las altas presiones debido a que estos dos tipos de interacciones presentan cambios de volumen negativos (Ma y col., 2007). Se ha observado que los enlaces covalentes tienen baja compresibilidad y no se ven afectados por presiones inferiores a 1000-2000 MPa. De esta manera las moléculas de bajo peso molecular como los hidratos de carbono, los péptidos y los lípidos, así como la estructura primaria de las moléculas no se ven modificadas. Es conocido también que diferentes reacciones de Maillard, por ejemplo xilosa-lisina, son reducidas o inhibidas bajo presión.

La sensibilidad de los microorganismos a la aplicación de API, llamada barosensibilidad, depende de múltiples factores y por ello sigue siendo objeto de múltiples investigaciones. En cuanto a los efectos sobre los componentes y las características de los alimentos, en las condiciones habituales de procesado no se afectan los enlaces covalentes y puede decirse que no se alteran los aromas ni el valor nutritivo de los alimentos. Sin embargo, sí pueden producirse cambios de color, apariencia y modificaciones en los atributos de textura, aunque los efectos varían de unos alimentos a otros (Campus y col., 2008).

2.5. Equipos de tratamiento por API

El primer equipo para procesar alimentos que empleó alta presión fue diseñado en Japón por Mitsubishi Heavy Industries Ltd. (Pothakamury y col., 1995). Con los equipos de API disponibles en el mercado no se han podido diseñar procesos continuos (Téllez-Luis y col., 2001). El tratamiento por alta presión se puede llevar a cabo en dos tipos de equipos dependiendo del producto a tratar. Normalmente se utiliza el tipo discontinuo para productos líquidos o sólidos ya envasados y el tipo semicontinuo para líquidos no envasados en los cuales el alimento líquido se introduce directamente en la cámara de presurización. Los equipos discontinuos consisten en un cilindro de acero inoxidable con una pared gruesa y resistente en cuyo interior está el líquido de compresión, e.g. agua o una mezcla de agua y aceite. Este líquido es

impulsado desde un depósito hasta el recipiente de tratamiento. El alimento se coloca en un recipiente de plástico estéril, se sella y se introduce en la cámara de presurización. Se recomienda que el material plástico sea una película de alcohol de polivinilo (PVOH) y películas de copolímeros de alcohol de etileno y vinilo (EVOH). Una vez empacado, el alimento es introducido en el cilindro. Un par de bombas inyectan agua dentro del cilindro hasta alcanzar la presión adecuada y se mantiene la presión durante el tiempo seleccionado para finalmente descomprimir (Ledward y col., 1995).

2.6. Efecto de la API sobre los constituyentes de los alimentos

2.6.1. Agua

La presión modifica muchas propiedades del agua. Al incrementar la presión se produce un descenso en el volumen del agua, pero muy pequeño en comparación con el que pueden experimentar los gases. A 22 °C el descenso de volumen del agua es aproximadamente 4% a 100 MPa, 7% a 200 MPa, 11.6% a 400 MPa y 15.0% a 600 MPa. En alimentos con alto contenido de agua, como la carne, su comportamiento es muy similar. Esta disminución de volumen implica un aumento en la densidad y como consecuencia los coeficientes de difusión de los solutos disminuyen. La compresión adiabática del agua causa un aumento de temperatura de 2 a 3 °C por cada 100 MPa, el cual depende de la temperatura inicial del agua y de la velocidad de compresión. Este cambio es reversible cuando se realiza la descompresión ya que se produce una disminución de la temperatura de la misma magnitud (De Heij y col., 2003). La presión también aumenta la ionización H^+ , OH^- del agua dependiendo de la temperatura. Esta separación de carga positiva y negativa es inducida por un fenómeno electrostático que provoca el reacomodo de las moléculas en una manera más compacta debido a una interacción dipolo-dipolo y puentes de hidrógeno, reduciendo el pH del agua bajo presión y va de 7.0 a 6.27 cuando la presión aumenta de 0.1 MPa a 1000 MPa. Así, el pH del agua, de ácidos débiles y de varios compuestos intermediarios con excepción de los compuestos amino disminuye de 0.2 a 0.5 unidades por cada 100 MPa. Aunque estos cambios de pH son reversibles, bajo presión provocan cambios en la conformación de la proteína (Zhang y col., 2005). La alta presión evita que el agua se congele a una temperatura de -22 °C. Esto también se verifica en el diagrama de fases del agua a 210 MPa. Al aplicar mayor presión la microcristalización resultante es menos dañina para la textura del alimento que la congelación tradicional (Fernández-Martín y col., 2000).

2.6.2. Lípidos

La temperatura de fusión de los lípidos, en especial de los triacilglicéridos, aumenta reversiblemente 10 °C por cada 100 MPa. Es por eso que los lípidos presentes en estado líquido a temperatura ambiente se cristalizan bajo presión formando cristales más densos y estables. Es probable que la inactivación de microorganismos sea debida en parte a los cambios en la estructura y la permeabilidad de la membrana celular resultantes de la cristalización de lípidos (Gómez-Estaca y col., 2007). El aumento de la presión puede producir un aumento de la oxidación de los lípidos insaturados del alimento. El tamaño de gota y la viscosidad de las emulsiones aceite-agua son muy resistentes a las altas presiones. Sin embargo, cuando se usan proteínas para estabilizar a estas emulsiones, ocurre desnaturalización a altas presiones. Por ello, el tratamiento por alta presión de alimentos con alto contenido de proteínas, como la carne y el pescado, produce un incremento de la oxidación lipídica relacionado con la desnaturalización proteínica causada por la presión, ya que quedan libres iones metálicos que catalizan la oxidación de lípidos. En general, se admite que la alta presión induce la ruptura de los enlaces iónicos de sales, debido a la electronegatividad, y al menos una parte de las interacciones hidrofóbicas. En contraste, los enlaces covalentes tienen una baja compresibilidad y son mucho menos sensibles a los cambios de presión (Ma y col., 2007).

2.6.3. Proteínas

Se han realizado numerosos estudios del efecto de la alta presión sobre la estructura y funcionamiento de las proteínas. De forma general se concluye que la modificación de las proteínas se debe a los cambios en las interacciones intra e intermoleculares que ocurren entre grupos funcionales de los aminoácidos. Existe un aumento de las interacciones hidrofóbicas a presiones de 300 y 400 MPa, debido a la alta compresibilidad del agua libre. Por otra parte, los grupos sulfhidrilo pueden oxidarse dando lugar a puentes disulfuro en presencia de oxígeno. En general, la aplicación de presiones superiores a 100-200 MPa a temperatura ambiente, provoca la disociación de macroestructuras en subunidades, así como el despliegue y la desnaturalización de estructuras monoméricas, probablemente debido al debilitamiento de las interacciones o separación de los puentes salinos inter o intramolecular, según sea el caso (Sikes y col., 2009a; 2009b). Un estudio sobre el efecto del uso de presión en un intervalo de 100-300 MPa por 5 minutos en carne de bovino, con un tiempo de sacrificio del animal de 4 días, demostró que la carne se suavizó y su sabor se incrementó bajo estas condiciones. En las muestras sometidas a alta presión, se observó que la interacción entre actina y miosina sufrió cambios y produjo fragmentación de la miofibrilla, dejando inalterada la línea Z. El colágeno que conforma el tejido conectivo no sufrió

cambios significativos. La cantidad de aminoácidos y péptidos, los cuales contribuyen al sabor de la carne, aumentó (Susuki y col., 1992). Se ha estudiado la combinación de alta presión y temperatura. Los resultados muestran un efecto irreversible sobre las proteínas miofibrilares (Jiménez-Colmenero, 2002; Ma & Ledward, 2004).

2.6.4. Enzimas

Las APH modifican la estructura terciaria y cuaternaria de las proteínas, lo que significa que las enzimas son susceptibles a este tratamiento. Esta alteración es debida a la modificación de las estructuras intermoleculares y cambios en la conformación del sitio activo de la enzima. Algunas enzimas se inactivan con las altas presiones, mientras que otras se activan. Por ejemplo, las deshidrogenasas de *E. coli* se inactivan completamente cuando se someten a presiones de 100 MPa durante 15 minutos a 27 °C, mientras que la actividad de la aspartasa de esta bacteria se incrementa cuando la presión se eleva a 680 MPa. De igual forma las lipasas encontradas en muestras de sardinas, pierden su actividad catalítica debido al tratamiento por presión. Por otra parte, la alta presión podría afectar el nivel de interacción sustrato-enzima, en el cual el sustrato es una macromolécula. La alta presión podría modificar la conformación de la macromolécula o su disociación en subunidades afectando su actividad, haciendo más fácil o difícil el ataque de la enzima (Morales y col., 2008).

2.6.5. Vitaminas

El efecto de altas presiones sobre la estabilidad de las vitaminas ha sido uno de los aspectos que más interés ha suscitado entre los diferentes autores que evalúan este proceso en comparación con los tratamientos térmicos. El proceso tecnológico de altas presiones hidrostáticas es menos dañino para las vitaminas hidrosolubles, lo que contribuye a conservar la calidad nutricional del alimento (Kimura y col., 1994).

2.6.6. Hidratos de carbono

A pesar de los pocos trabajos que existen sobre el efecto de las altas presiones sobre los hidratos de carbono, distintos autores coinciden en afirmar que los azúcares simples no resultan afectados por este tratamiento (Cheftel, 1995). Las reacciones de condensación de Maillard son inhibidas por la aplicación de altas presiones entre 50 y 200 MPa. En consecuencia, no hay desarrollo del sabor y del color típico de esta reacción (Sangronis y col., 1997). La alta presión afecta la transición sol-gel de los polisacáridos dando lugar a geles diferentes a los obtenidos por aplicación de calor (Gekko, 1992).

2.7. Efectos de la API sobre los microorganismos

Las altas presiones inducen cambios de tipo morfológico, bioquímico y genético, que tienen lugar en las membranas y en la parte celular de los microorganismos. Además, provocan cambios en el funcionamiento y la reproducción de los microorganismos (Cheftel, 1995). Está bien establecido que la aplicación de altas presiones tiene como resultado la muerte de los microorganismos y que por lo tanto puede aplicarse para esterilizar y pasteurizar alimentos. La inactivación de los microorganismos por API se explica por la modificación de las membranas celulares las cuales sufren cambios de conformación y como resultado tienen una mayor permeabilidad y susceptibilidad a sufrir daño en el material genético de la célula (Ledward y col., 1995). Se han observado varios cambios morfológicos de las células bajo el efecto de la presión. Por ejemplo, la compresión de las vacuolas de gas, la elongación de la célula, la contracción con formación de poros y la modificación del núcleo. Por otra parte, el material genético se ve afectado a nivel de las enzimas implicadas en la replicación y transcripción del ácido desoxirribonucleico (ADN) (Cheftel, 1995).

Una de las operaciones más difícil en la conservación de alimentos es la inactivación de esporas bacterianas. Aunque es posible inactivarlas por tratamientos térmicos, no es muy deseable debido a que el calor afecta la calidad del alimento ya que destruye nutrientes termolábiles. A temperatura ambiente, las esporas de levaduras y mohos se inactivan fácilmente a presiones entre 300-400 MPa. En el caso de las esporas bacterianas, éstas tienen una mayor resistencia, ya que soportan muchas veces presiones de hasta 1000 MPa. Por ello, la inactivación de las esporas bacterianas requiere generalmente combinaciones de presión y temperatura, debido a que la alta presión resulta insuficiente. De esta forma la presión induce la germinación de las esporas y la subsecuente aplicación de presión y temperatura actúa sobre la espora geminada reduciendo así la carga bacteriana. La aplicación de API permite alcanzar reducciones hasta cinco logaritmos decimales en patógenos como *Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Vibrio parahaemolyticus* (An y col., 2000; Mackey y col., 1994; Metrick y col., 1989; Patterson y col., 1995; Stewart y col., 1997; Styles y col., 1991). Presiones de 345 MPa a 23 °C por 10 minutos produjeron reducciones de hasta cuatro ciclos logarítmicos en pollo preparado para fórmula infantil (Metrick y col., 1989; Morales y col., 2008; Jefferies y col., 2012).

2.8. Estudios previos de aplicación de API en carne

En estudios pioneros, se trató jamón a 250 MPa y 20 °C por tres horas y se mejoró la retención de agua y se redujo la carga microbiana. Sin embargo, las rebanadas adquirieron sabor a carne asada, además de que disminuyó el contenido de sal (Cheftel & Culioli, 1997). Se han estudiado los cambios de color y carga microbiana a presiones de 50 a 600 MPa a 10 °C con tiempos de 20 a 300 s. Se han observado modificaciones en el color de la carne hasta una presión de 300 MPa. Durante los primeros tres días de almacenamiento a 4 °C, el aumento en el enrojecimiento se mantuvo para una presión de 130 MPa, mientras que el enrojecimiento de la carne presurizada a 520 MPa disminuyó gradualmente (Jung y col., 2003). Cuando el músculo fue sometido a presiones de 100 a 150 MPa a 35 °C por 10 min antes del *rigor mortis*, se observó una disminución de pH con lo cual se aceleró la maduración de la carne. Por consiguiente, la primera reacción enzimática *pre rigor* sería inducida por altas presiones, mientras la segunda, *post rigor*, sería reducida.

Se ha investigado el efecto del tratamiento a 400 MPa por 10 min a 12 °C sobre el perfil de volátiles de carne picada (Rivas-Cañedo y col., 2009). El análisis de la fracción volátil se llevó a cabo mediante la extracción en espacio de cabeza dinámico acoplado a cromatografía de gases-espectrometría de masas. Como resultado de la presurización se observaron cambios significativos en los niveles de algunos compuestos volátiles presumiblemente procedentes de la actividad microbiana. Algunos alcoholes y aldehídos disminuyeron mientras que otros compuestos, como la 2,3-butanodiona y 2-butanona, fueron más abundantes en las carnes tratadas con alta presión. También se observó una migración importante de los compuestos de la materia plástica de empaque, principalmente alcanos de cadena ramificada y compuestos de benceno. Con base en ello se propusieron dos líneas de estudio; el tratamiento de alta presión sobre el alimento y su efecto sobre el material de embalaje.

Al someter la carne a 400 MPa por 10 min a 12 °C hubo una reducción drástica de los grupos microbianos de 6.53 a 3.79 log UCF/g. Después de cuatro días de almacenamiento a 4 °C la población en la carne no sometida a tratamiento fue de 6.87 log UCF/g y en las muestras tratadas fue de 3.50 log UCF/g, es decir, existió una reducción posterior al tratamiento por APH. Sin embargo, el efecto de la presurización no es idéntico en todos los grupos de bacterias. Las Gram negativas y los coliformes disminuyeron más que los mesófilos aerobios y las bacterias del ácido láctico; las diferencias persistieron después de cuatro días de almacenamiento a 4 °C (Rivas-Cañedo y col., 2009).

La exposición a 200 MPa de carne cruda de porcino con el músculo *Longissimus dorsi* y carne de bovino con el músculo *Semitendinosus* congelada a -20 °C, mostró pérdidas de humedad similares para carne

fresca (19.7 a 22.2%) y sometida a alta presión (19.0 a 22.6%). La carne congelada mostró valores más grandes (20.2 a 25.0%) que aquellos de la carne no tratada y la sometida a alta presión, lo que muestra que la APH es mejor que la congelación (Fernández-Martín y col., 2000).

Ma y Ledward (2004) sometieron carne a diferentes combinaciones de presiones (0.1, 200, 400, 600 y 800 MPa) y temperaturas (20, 40, 60 y 70 °C). El pH final del músculo varió de 5.34 a 5.53, pero debido a que las muestras fueron seleccionadas al azar para los diferentes tratamientos no es posible decir si esta pequeña variación es función de las diferentes muestras.

El tratamiento térmico aumentó el pH en 0.06, 0.11 y 0.14 unidades a 40, 60 y 80 °C, respectivamente, contrario a lo reportado por Hamm (1960). Esto se ha atribuido a los grupos ácidos resultantes de la desnaturalización de las proteínas. A temperatura ambiente (20 °C), el incremento de presión también aumentó el pH de manera similar al observado en el tratamiento con calor; 0.14 a 0.17 unidades de pH. El aumento de pH observado al incrementar la presión fue de una magnitud similar, independientemente de la temperatura a la que se aplicó la presión. Esto indica que, aunque la presión y la temperatura dan lugar a incrementos pequeños pero significativos en el pH, sus efectos no son acumulativos.

Fernández-Martín et al. (2000) realizaron pruebas a 200 MPa a temperatura ambiente y -20 °C y evaluaron el color de la superficie expresado como (L), (a) y (b) en un espectrofotómetro Hunter-D₂₅ modelo de laboratorio, previamente calibrado con un estándar blanco. Como se muestra en la Tabla 2.1, los parámetros de color de la carne fresca son similares a los de las muestras congeladas. Las muestras sometidas a presión sin congelación y a presión con congelación exhibieron un aspecto similar al cocido; grisáceo-café en el exterior. Las superficies recién cortadas, en las muestras de carne de cerdo, muestran un aumento considerable de la luminosidad (L), en el orden cruda < congelada < presión/sin congelación < presión/congelación. Por otro lado hubo pocas variaciones en (a) y (b).

Tabla 2.1. Parámetros de color para diferentes tratamientos de presión y temperatura.

Carne	a	b	L
Fresca	4.6	4.8	38.5
	12.2	8.1	36.6
Congelada	3.5	6.3	44.4
	9.9	7.3	40.9
Presión	4.5	8.4	64.6
	10.9	10.5	52.2
Presión/congelación	4.5	9.2	66.6
	11.1	10.1	53.3

Jung et al. (2003) compararon los valores de L* (luminosidad), a* (enrojecimiento) y b* (amarillo) de muestras de carne sometida a 520 MPa y 10 °C por 260 s y sin tratamiento. Los parámetros fueron determinados en un equipo CIELAB (espectro colorímetro Uvikon 810P). Los resultados se muestran en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Diferencia en los parámetros de color entre carne presurizada y sin tratamiento.

ΔE	Δa^*	Δb^*	ΔL^*
15.56	1.35	6.71	13.97

El tratamiento de la carne a 520 MPa y 10 °C por 260 s resultó en un aumento de la luminosidad (L), el enrojecimiento (a) y el amarillo (b) (Tabla 2.2). Este resultado es consistente con estudios realizados anteriormente a 200 MPa (Cheftel & Culioli, 1997). Sin embargo, existen algunos tratamientos que pueden mejorar el color de la carne. Por ejemplo, Cheah y Ledward (1997) reportaron que el color de la carne mejora si se expone al aire dos días después del sacrificio y mejora después del tratamiento a 80 y 100 MPa y 25 °C por 20 min.

Sikes et al. (2009a) sometieron tejido muscular a 200 MPa y 60 °C durante 20 min. El tratamiento después del rigor produjo una mejora muy significativa en la dureza reduciendo los valores de fuerza máxima de 97 a 49 N.

Se han realizado varios estudios de textura de carne sometida a alta presión con el propósito de comprender mejor los efectos de la presión y de la temperatura sobre la textura de la carne de bovino. Ma y Ledward (2004) sometieron la carne a diferentes combinaciones de presiones (0.1, 200, 400, 600 y 800 MPa) y temperaturas (20, 40 60 y 70°C). A 20 °C un aumento en la presión condujo a un aumento en la dureza para presiones de hasta 400 MPa, después de lo cual hubo un ligero descenso con los subsecuentes incrementos de presión. Jung et al. (2000a, 2000b, 2003) no encontraron cambios en la terneza de carne de bovino *post-rigor* tratada para presiones desde 100 hasta 600 MPa. En la carne de bovino parece ser que la aplicación simultánea de alta temperatura (60-70 °C) y presión moderada, e.g. 200 MPa, produce una textura más blanda que a temperaturas elevadas (más de 60 °C) sin presión. Sin embargo, la alta temperatura modifica el color de la carne. Por ello en la presente investigación no se aplicaron altas temperaturas.

2.9. Justificación

Debido a que en los alimentos la API se utiliza para mejorar su calidad microbiológica y sus características fisicoquímicas y sensoriales, se deben seleccionar las condiciones de tratamiento más adecuadas, en función del objetivo prioritario. El tiempo de aplicación de la presión puede ir de unos pocos minutos hasta algunas horas y la temperatura de tratamiento puede ir de -20 a 90 °C. Entre los nuevos métodos de conservación de alimentos, la API es probablemente la tecnología más desarrollada comercialmente. El atractivo principal de esta tecnología es el poder realizar el tratamiento a temperatura ambiente y conservar los parámetros de calidad del producto original. Cuando un alimento es sometido a API se observan principalmente los efectos siguientes:

1. Modificación del volumen del sistema.
2. Modificación de la estructura del almidón y de las proteínas.
3. Modificación de la actividad enzimática e inactivación de los microorganismos.

En la práctica, estos efectos son muy variables y dependen del alimento tratado. En consecuencia cada alimento requiere un estudio particular y completo, por lo cual este proyecto plantea generar conocimiento básico de la modificación de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas que sufre la carne de bovino como consecuencia del tratamiento por API, así como establecer las condiciones que permitan obtener un alimento estable, seguro y de calidad, aunque es específico para un corte magro, sirve como base para carne destinada a otros usos tales como elaboración de embutidos en los cuales sea deseable modificar la apariencia de color y textura. Los resultados generados permiten contar con el soporte fundamental para la implementación de esta tecnología en la industrialización de la carne.

2.10. Objetivo

Encontrar las mejores condiciones de altas presiones isoestáticas de un corte magro de carne de bovino por medio de la evaluación de los cambios físicos, químicos y microbiológicos resultantes de su aplicación para conocer el impacto de este tratamiento sobre la conservación de este alimento.

2.11. Hipótesis

El tratamiento de carne por alta presión isoestática disminuirá la carga microbiana y retrasará la producción de compuestos de descomposición que provocan los cambios no deseables en la carne de consumo, con cambios mínimos en sus características físicas apreciables al consumidor, incrementando la vida de anaquel de uno de los cortes más apreciados de carne cruda.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo experimental se dividió en dos etapas. En la primera, se aplicaron diferentes presiones y tiempos de exposición para observar su efecto sobre el color y el contenido de mesófilos aerobios y seleccionar las combinaciones que no produjeran cambios visibles de color pero redujeran la carga microbiana. La segunda etapa consistió en aplicar las presiones y tiempos seleccionados para examinar el cambio con el tiempo de diferentes parámetros físicos, químicos y microbiológicos de la carne durante el almacenamiento en refrigeración. Adicionalmente, se seleccionó el tratamiento que produjo los mejores resultados y se examinó su efectividad contra la presencia de microorganismos patógenos.

3.1. Materia prima

Se consideró obtener los cortes de carne en un rastro TIF de animales recién sacrificados para evitar que la carne tuviera algún tratamiento físico o químico previo así como un tiempo prolongado en refrigeración o congelación. Sin embargo, esto no fue factible porque en esos establecimientos no se venden cortes al menudeo. No obstante, este estudio muestra las diferencias que existen entre la carne tratada por alta presión y la no tratada, tomando en cuenta la condición inicial de los cortes. La carne se adquirió en un supermercado local; Sumesa sucursal Centenario, Avenida Centenario 227 Colonia del Carmen, Coyoacán, D.F.

Se seleccionó el corte magro filete proveniente del músculo *Psoas mayor*, ya que es un corte cuya demanda es alta (Ramírez Orejel, 2009). Este corte está ubicado a un costado del lomo, se inicia a partir de la porción más carnosa, la cual se encuentra adherida internamente a los músculos de la pierna y a la cabeza del fémur. El lomo fino se considera la parte más blanda de la canal. El plano muscular está formado por los músculos *Psoas mayor*, *Psoas menor*, cuadrado lumbar e ilíaco. El consumo recomendado es frito, a la plancha, a la parrilla u horneado. Se pueden hacer diferentes cortes como filete mignon, tampiqueña, medallones y puntas de filete. El pH de algunos cortes fue mayor de 6.0 y el de otros alrededor de 5.5. Por ello se decidió estudiar los dos diferentes tipos de carne sin denominarlos PSE o DFD, ya que para hacerlo sería necesario conocer las características antes del sacrificio.

3.2. Diagrama de trabajo experimental

Para las pruebas de la primera etapa se pesaron muestras de aproximadamente 25 g, se empacaron al vacío en bolsas de polietileno y se fotografiaron antes y después del tratamiento por alta presión. Después del tratamiento se hizo la cuenta total de mesófilos aerobios por extensión en superficie.

Para las pruebas de la segunda etapa, una vez seleccionadas las condiciones de presión y tiempo, las muestras de carne se empacaron al vacío con la cantidad necesaria para efectuar las pruebas experimentales por triplicado para las seis semanas de seguimiento. Las pruebas se hicieron tomando porciones del mismo músculo el cual se cortó, se pesó, se empacó al vacío, se sometió al tratamiento por alta presión y se almacenó a 4 °C. Para las pruebas de textura y color se usó el mismo músculo. Todos los reactivos usados en los análisis químicos fueron grado analítico. El disolvente fue agua destilada. Se hicieron los análisis mostrados en la Figura 3.1.

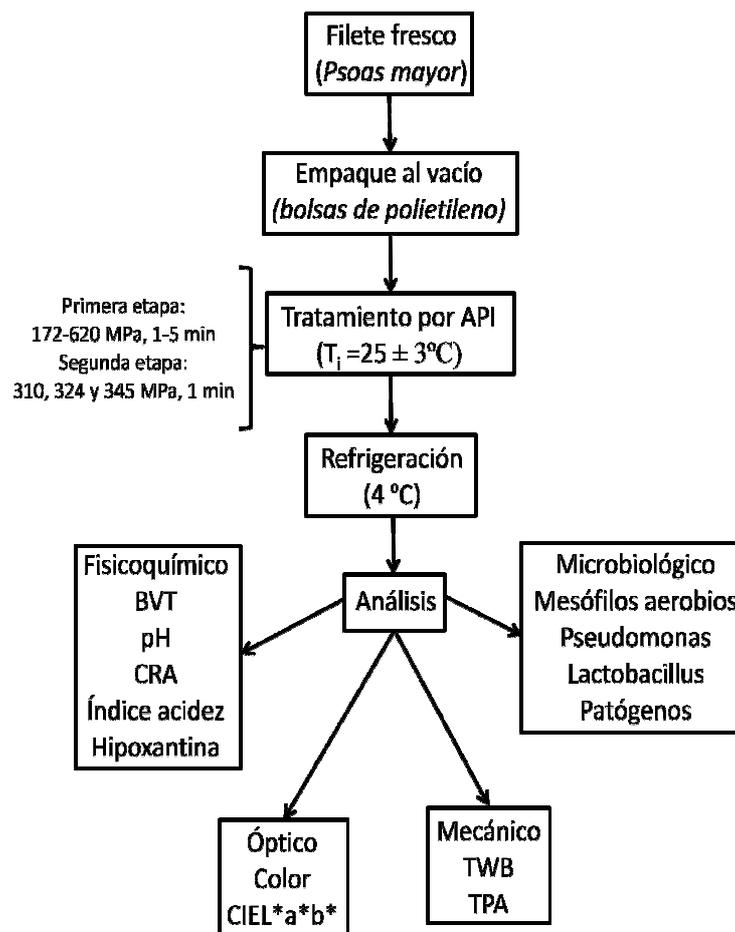


Figura 3.1. Diagrama de trabajo experimental.

3.3. Cuenta en placa de bacterias por expansión en superficie (Camacho y col., 2009)

Se analizaron microorganismos mesófilos aerobios, patógenos y alterantes por medio del método de cuenta en placa por extensión superficial, cuyas características se describen en el Capítulo I, sección 1.9.2.

3.3.1. Preparación del medio de cultivo

Se esterilizaron a 120 °C por 15 minutos en una autoclave (Presto, México) 400 mL de agar, matraces con 225 mL de agua peptonada al 1% tapados con papel aluminio y viales con agua peptonada al 1%. Se dejaron enfriar hasta 45 °C aproximadamente y se vertieron en cajas Petri. Se incubaron 24 h a 37 °C para comprobar su esterilidad. Se colocaron 25 g de carne y los 225 mL de agua peptonada al 0.1% esterilizada en una bolsa para Stomacher al que se introdujeron por 90 s en intensidad alta. A partir de ésta se realizaron diluciones decimales en agua peptonada al 1% estéril.

3.3.2. Inoculación e incubación

Se inocularon por triplicado, 0.1 mL de la dilución correspondiente en cada caja de Petri, con una pipeta estéril y se distribuyó de manera homogénea utilizando un esparcidor celular. Por último se incubaron (Incubadora Felisa, México) las cajas Petri en posición invertida durante 24 horas a 37 °C.

3.3.3. Reporte de resultados

Las cajas representativas tienen un número de colonias entre 25 y 250 UFC. Se aplicó el factor de dilución y se tomaron dos cifras significativas y potencias de diez.

3.3.4. Patógenos

Para las pruebas con patógenos se consideraron los microorganismos señalados en la norma y a *E. coli* O157:H7 el cual aunque no está en la norma es de mayor importancia debido a su gran incidencia en carne de bovino (Rangel y col., 2005). Además, como este microorganismo es anaerobio facultativo, es decir, crece mejor en un medio anaerobio, pero puede también desarrollarse en un medio aerobio se consideró representativo dado que la carne se empacó al vacío. Seis muestras no se inocularon con los microorganismos patógenos para determinar su presencia en la carne adquirida en el comercio. Doce muestras fueron inoculadas para determinar la efectividad de la alta presión; seis de ellas fueron tratadas a 345 MPa. Los inóculos de los microorganismos patógenos fueron obtenidos en el laboratorio de la Dra. Carmen Wachter del Departamento de Alimentos y Biotecnología de la Facultad de Química-UNAM. La reactivación, estandarización e inoculación de la cepa en la carne se describe a continuación para los tres tipos de microorganismos. Al finalizar el conteo de microorganismos las muestras fueron esterilizadas y desechadas.

3.3.4.1. Reactivación de la cepa

Se inocularon 20 µL de cultivo conservado en 4.5 mL de una solución de Infusión Cerebro Corazón (BHI Bioxon, Difco) y se incubaron durante 24 h a 37 °C. Se tomó una alícuota de 500 µL del cultivo, se adicionó a un vial con 4.5 mL de medio BHI y se incubó por 6 h a 37 °C. Enseguida se tomó una alícuota de 500 µL del cultivo y se adicionó a un vial con 4.5 mL de solución peptona al 0.1%; este vial correspondió a la dilución 10^{-1} , que corresponde a 10^4 UFC/mL. Se realizaron las diluciones necesarias, manteniendo la proporción de 500 µL por 4.5 mL de la solución salina o de peptona; diluciones de 10^{-1} a 10^{-6} .

3.3.4.2. Estandarización del inóculo

Para llevar a cabo la primera estandarización del inóculo se efectuaron diluciones hasta 10^{-6} para identificar aquéllas en las cuales se tuviesen 10^4 UFC/mL y 10^1 UFC/mL. De la dilución correspondiente, se tomó el volumen (µL) necesario considerando la proporción de 100 µL de cultivo/20 mL de medio a inocular. Con esta proporción se inoculó un vial con medio BHI; 22.5 µL de cultivo/4.5 mL BHI y se hicieron las diluciones necesarias en viales con 4.5 mL de solución de peptona, tomando alícuotas de 500 µL. De cada dilución se tomó una alícuota de 100 µL para sembrar por extensión de superficie para la cuenta en placa. Por cada dilución se hizo un triplicado. Para la cuenta en placa de *Escherichia coli* se utilizó Agar Eosina azul de metileno, para *Salmonella typhimurium*, se utilizó Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD, BD, Difco) y para *Staphylococcus aureus* se usó Agar *Staphylococcus* 110. Se dejaron incubar 24 h a 37 °C. La cuenta en placa se realizó considerando el intervalo de confianza de 25 a 250 colonias; por arriba o por debajo de estos valores se consideró como valor estimado.

3.3.4.3. Inoculación de la carne

Se inocularon 20 µL de los cultivos conservados en 4.5 mL de caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI Bioxon, Difco). Se incubaron 24 horas a 37 °C y después se inocularon 20 µL del cultivo activado en otro vial con caldo BHI y se incubaron 8 horas a 37 °C. Se hicieron diluciones desde 10^{-1} hasta 10^{-6} en agua peptonada al 0.1%. De las diluciones se tomaron 125 µL para inocular 25 g de la muestra de carne. La carne se colocó en una bolsa para Stomacher, se agregó el inóculo y con un pequeño masaje se extendió por la superficie de la carne. Por último se siguió la técnica para trabajar en cuenta en placa.

3.3.5. Mesófilos aerobios, BAL y *Pseudomonas*

Para mesófilos aerobios se usó agar cuenta en placa, para BAL se usó BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar) y para *Pseudomonas* se usó *Pseudomonas* agar P. marca Difco.

3.4. Determinación de bases volátiles totales (BVT)

Se colocaron 10 g de muestra en un matraz de 125 mL. Se añadieron 100 mL de agua y 2 g de carbonato de magnesio. En otro matraz de 125 mL, referido aquí como M2, se añadieron 25 mL de solución de ácido bórico al 4% y cuatro gotas de rojo de metilo. La solución de ácido se preparó disolviendo 4 g de ácido bórico en agua y aforando a 100 mL. La solución de indicador se preparó disolviendo 0.05 g de rojo de metilo en alcohol y aforando a 10 mL. Se usó arrastre de vapor y se recolectaron 50 mL en el matraz M2. A continuación el contenido de este matraz se tituló con solución 0.1 N de ácido clorhídrico. Se usó un blanco que fue preparado diluyendo 0.1 mL de HCl en agua y aforando a 100 mL (Goulas & Kontominas, 2005). Las BVT se expresan como la cantidad de nitrógeno volátil total (NVT) calculada con la ecuación 3.1.

$$NVT = \left(\frac{V_{HCl} M_N}{m} \right) \left(\frac{0.01 \text{ mol N}}{1000 \text{ mL HCl } 0.1 \text{ N}} \right) \left(\frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} \right) 100 \quad (3.1)$$

donde V_{HCl} es el volumen de ácido clorhídrico (mL) usado en la titulación, M_N es el peso molecular del nitrógeno (14 g/mol) y m es la masa de muestra (g).

3.5. Determinación del índice de acidez (IA)

Se pesaron 10 g de carne y se molieron en una licuadora con 200 mL de agua. Se filtró en una manta de cielo para eliminar el tejido conectivo. El filtrado se aforó en un matraz de 250 mL con agua. Se tomaron 25 mL de esta solución y se colocaron en un matraz de 150 mL añadiendo 75 mL de agua. Se procedió a titular con NaOH 0.1 N, usando fenolftaleína como indicador. El indicador se preparó disolviendo 1 g de fenolftaleína en 50 mL de etanol y aforando a 100 mL con agua. Se preparó un blanco usando 25 mL de agua destilada. El IA se calculó usando la ecuación 3.2 y se expresó como porcentaje de ácido láctico (Nollet, 2004). Las determinaciones se hicieron por triplicado.

$$IA = 0.009 \left(\frac{V_S - V_B}{m} \right) \left(\frac{1 \text{ g}}{75 \text{ mL}} \right) 100 \quad (3.2)$$

donde V_S es el volumen (mL) de NaOH para la muestra, V_B es el volumen (mL) de NaOH para el blanco y m es la masa de muestra (g).

3.6. Medición de pH (AOAC, 2005).

A 100 mL de agua destilada se le añadieron 10 g de carne y se molieron en una licuadora durante un minuto. La suspensión resultante se filtró en una coladera para eliminar el tejido conectivo. El pH del líquido filtrado se midió a 20 °C en un potenciómetro (420A, Orion Researc Inc., EUA) equipado con un electrodo. El instrumento se calibró con los buffers 7, 4 y 10 siguiendo las instrucciones del fabricante. Las mediciones se hicieron por triplicado.

3.7. Determinación de la capacidad de retención de agua (CRA) (Guerrero y col., 2002).

Se cortaron 15 g de carne en pedazos muy finos y se colocaron 5 g en tubos de centrifuga. A cada tubo se le añadieron 8 mL de solución 0.6 M de NaCl. Esta solución se preparó disolviendo 3.5 g de NaCl en agua y aforando a 100 mL. El contenido de los tubos se agitó con una varilla de vidrio durante un minuto. Los tubos se colocaron en un baño de hielo durante 30 minutos. Después de este tiempo se agitaron nuevamente durante un minuto. Los tubos se centrifugaron por 15 minutos a 6 000 rpm (centrífuga Z200A, Hermle Labortechnik, Alemania). Se decantó el sobrenadante en una probeta y se midió el volumen. La CRA se calculó considerando el agua no retenida proveniente de los 8 mL de solución NaCl añadidos y se expresa como la cantidad de solución retenida por 100 g de muestra.

3.8. Análisis de la cantidad de hipoxantina (Muñoz, y col., 2002)

En una licuadora se homogeneizaron 25 g de carne con 50 mL de ácido perclórico 0.6 M. La solución de ácido se preparó mezclando 2.6 mL de ácido perclórico en agua y se aforó a 50 mL. La suspensión se filtró y a 2 mL del extracto se le adicionaron 7 mL de agua y 0.2 mL de nitrato de plata 1 M. Este se preparó disolviendo 1.7 g de nitrato de plata en agua y se aforó a 10 mL. El precipitado se separó centrifugando a 3200 rpm por 5 minutos (centrífuga Z200A, Hermle Labortechnik, Alemania) y la hipoxantina precipitada se disolvió en 15 mL de ácido clorhídrico (36.5 – 38%). Se leyó la absorbancia de la solución a 284 nm. La concentración de hipoxantina se determinó por referencia a una curva patrón de hipoxantina en el intervalo de 0.02 a 2 $\mu\text{mol/mL}$ la cual se muestra en la Figura 3.2.

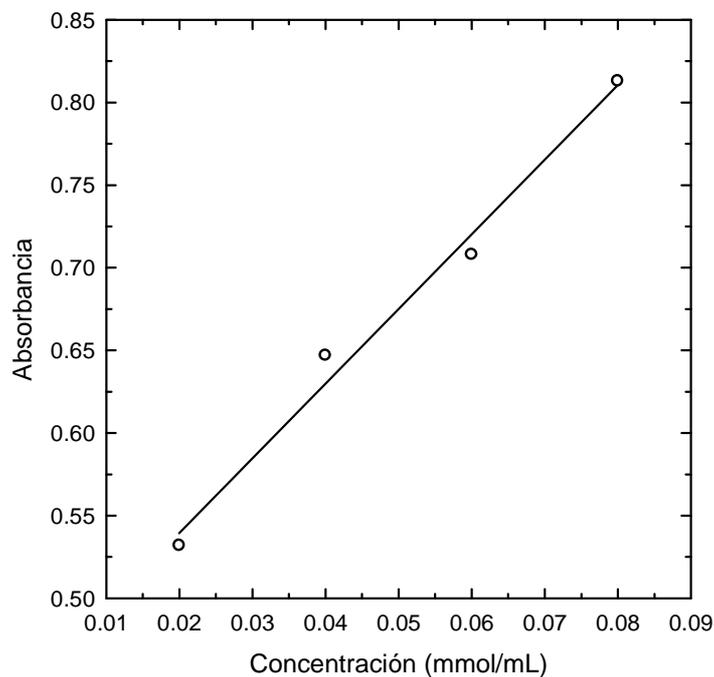


Figura 3.2. Curva patrón de hipoxantina.

3.9. Color instrumental

La determinación instrumental de color de la carne en el empaque plástico se hizo en un espectrofotómetro (Minolta CM- 3600d, Japan). Este instrumento permite evaluar el color en dos modalidades; porcentaje de reflectancia y porcentaje de transmitancia. La selección de cualquiera de ellas se hace considerando el tipo de muestra por analizar. El instrumento puede indicar los valores numéricos de los atributos de color en distintos sistemas como el CIELAB y el Hunter Lab. Debido a que la muestra por analizar es clasificada como un cuerpo opaco, ya que no permite el paso de la luz incidente sobre ella, la evaluación de color se llevó a cabo en el modo de porcentaje de reflectancia, con incidencia de luz solar o luz de día D_{65} sobre la muestra. Los atributos de color se expresan en el sistema CIELAB. Antes de llevar a cabo cualquier evaluación, el instrumento se calibró con un negro y un blanco suministrado por el proveedor. Como parte de la calibración se indicaron en el equipo las condiciones de trabajo mostradas en la Tabla 3.2.

Tabla 3.1. Parámetros y condiciones para las pruebas de color.

Parámetro	Condición
Número de disparos	1
Estándar	Nulo
Energía UV	Incluida
Componente especular (SC)	Excluido
Lente o área de visión	Pequeño
Iluminante	D ₆₅ (luz de día, natural 6,500 K)
Detector	10°
Sistema de reporte de color	CIE L*a*b*

3.10. Propiedades mecánicas

Para el análisis de las propiedades mecánicas fue necesario seleccionar las condiciones de prueba considerando trabajos reportados (Jung y col., 2000b; Ma & Ledward, 2004; Ruiz de Huidobro y col., 2005) y llevando a cabo pruebas preliminares con tres diferentes cortes.

3.10.1. Terneza

Se determinó la terneza al corte usando la celda Warner-Bratzler con las siguientes especificaciones: espesor de la cuchilla 1.016 mm (0.040 in), cuchilla en forma de V con un ángulo de 60°, borde biselado con corte a la mitad, separadores con espacio de 2.032 mm de espesor para permitir el paso de la cuchilla. La carne se cortó con un sacabocados para obtener cilindros de 1.27 cm (0.5 in) de diámetro y aproximadamente 25 mm (1 in) de longitud. Los cortes se hicieron paralelamente a la orientación longitudinal de las fibras musculares.

3.10.2. Análisis de perfil de textura (TPA)

El análisis de perfil de textura (TPA) se llevó a cabo en una máquina de pruebas mecánicas (MTS, Sintech 1/S). Se cortaron cubos de carne de 1 cm³ y se comprimieron en dos ciclos perpendicularmente a la dirección de las fibras hasta 50% de su altura original a una velocidad de 120 mm/s con una punta cilíndrica de fondo plano de 5 cm de diámetro.

3.11. Tratamiento por alta presión isoestática

La carne se empacó al vacío en bolsas de polietileno previamente a cada tratamiento como se menciona en este capítulo en la Sección 3.2. En una primera etapa se usaron presiones de 172, 241, 310, 324, 345,

482 y 620 MPa con exposiciones de 1, 3 y 5 min a cada presión, para observar el efecto de cada combinación presión-tiempo y seleccionar las mejores. Los criterios de selección fueron que la carne no mostrara cambios indeseables de color y que ocurriera una disminución en la carga microbiana. Se usaron cortes no presurizados como control. Los tratamientos se llevaron a cabo a una temperatura inicial de 25 ± 3 °C en un equipo de alta presión (Elmhurst Systems Engineering, Albany, USA) provisto de una cámara de acero inoxidable de 500 mL de capacidad. Con base en las pruebas, se seleccionaron presiones de 310, 324 y 345 MPa. Presiones menores de 310 MPa no disminuyeron la carga microbiana y presiones mayores de 345 MPa cambiaron el color característico de un corte fresco como se muestra en la Figura 3.3. El tiempo de exposición fue de 1 min debido a que 2 min a 345 MPa provocó cambios de color no aceptables. La segunda etapa consistió en evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas de la carne sometida a las presiones seleccionadas. Se hizo un seguimiento semanal. Se usaron cortes no presurizados como control. Los cortes presurizados y los controles fueron mantenidos en refrigeración a 4 °C y se tomaron muestras para llevar a cabo los análisis al día siguiente y semanalmente. Las muestras fueron sacrificadas, es decir, se desecharon una vez usadas. Se presurizaron lotes con cantidad suficiente de carne para la toma de muestra y los diferentes análisis.

La carne ya empacada al vacío se introdujo en la cámara de presurización. Se añadió agua a la cámara hasta 2/3 de su capacidad sin muestra (*ca.* 400 mL). La cámara se cerró y el equipo se operó siguiendo el protocolo establecido por el fabricante. Al final del tratamiento, la carne fue sacada de la cámara, almacenada y analizada como se ha descrito.

3.12. Análisis estadístico

Todas las pruebas se hicieron por triplicado. El análisis estadístico se realizó sobre un diseño aleatorio con el protocolo SPSS 10.0 para Windows, Statgraphics. Se hizo un ANOVA de una vía, y un LSD (Fisher's least significant difference) o DMS (mínima diferencia significativa de Fisher) con un nivel de significancia de 0.05%. Se hizo el análisis de varianza para determinar si existen diferencias significativas entre las muestras antes y después del tratamiento, así como las muestras después de tratamientos diferentes. La desviación estándar se presenta tanto en los gráficos como en las tablas. Algunas figuras presentan la parte positiva de la desviación estándar en las muestras tratadas a 310 y 345 MPa y la parte negativa en las muestras control y de 324 MPa para evitar saturar los gráficos y posibles confusiones al momento de observarlos.

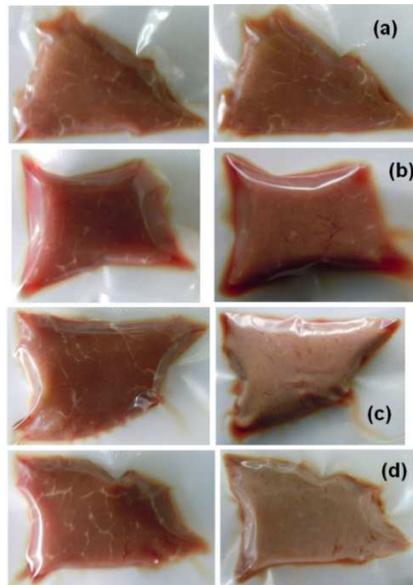


Figura 3.3. Efecto de API sobre el color de la carne a presiones de 172 MPa (a), 310 MPa (b), 482 MPa (c) y 620 MPa (d) por un minuto. Las imágenes en la columna izquierda corresponden a la carne antes de cada tratamiento. La temperatura inicial fue 25 ± 3 °C.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las pruebas de seguimiento semanal se llevaron a cabo en carne con pH alto (> 6.0) y carne con pH normal (5.5). Se aplicaron tres presiones diferentes y se incluyeron los respectivos controles, i.e., sin tratamiento por API. Se hicieron los análisis de microorganismos mesófilos aerobios, bases volátiles totales (BVT), pH, capacidad de retención de agua (CRA), color y textura instrumental considerando las características fundamentales para el consumo de carne que se discute en el Capítulo I, secciones 1.6. y 1.8. Habiéndose determinado el mejor tratamiento, se analizaron microorganismos específicos tanto patógenos como de descomposición, seleccionando los más representativos de carne fresca mencionados en el Capítulo I, secciones 1.9.1.3 y 1.9.1.4, así como algunos indicadores de frescura; índice de acidez e hipoxantina.

4.1. Microorganismos

4.1.1. Mesófilos aerobios

La Figura 4.1 muestra el crecimiento microbiano en agar cuenta en placa que incluye principalmente a los microorganismos mesófilos aerobios y sirve para conocer el contenido de microorganismos viables en un alimento, en este caso en la carne. La norma para carne señala un límite máximo de $\log \text{UFC/g} = 6.70$ lo que equivale a 5×10^6 UFC/g. En los cortes sin tratamiento por API se observó un rápido crecimiento microbiano; los cortes dejaron de ser aptos para consumo después de los primeros tres o cuatro días en refrigeración ya que sus UFC/g rebasaron el límite señalado en la norma. El tratamiento por API fue efectivo para reducir el número de población microbiana en todos los casos de hasta 1.2×10^6 UCF/g. Rivas et al. (2009) en carne molida de res a 400 MPa 12 °C 10 min. observaron una reducción de 3.3×10^6 UCF/g. La aplicación de alta presión al inicio del almacenamiento ($t = 0$) redujo considerablemente la carga inicial de este tipo de microorganismos en los dos tipos de carne (pH alto y pH normal). Esta reducción inicial es sumamente importante porque de ella depende la evolución posterior de los microorganismos viables y a su vez es el resultado de la presión aplicada. Incluso después de 45 días de almacenamiento en refrigeración las UFC/g se mantuvieron dentro de la norma. El tratamiento a una presión de 345 MPa produjo los mejores resultados tanto en la reducción inicial como

durante el almacenamiento y sí hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el tratamiento de 310 MPa con los de 324 y 345 MPa.

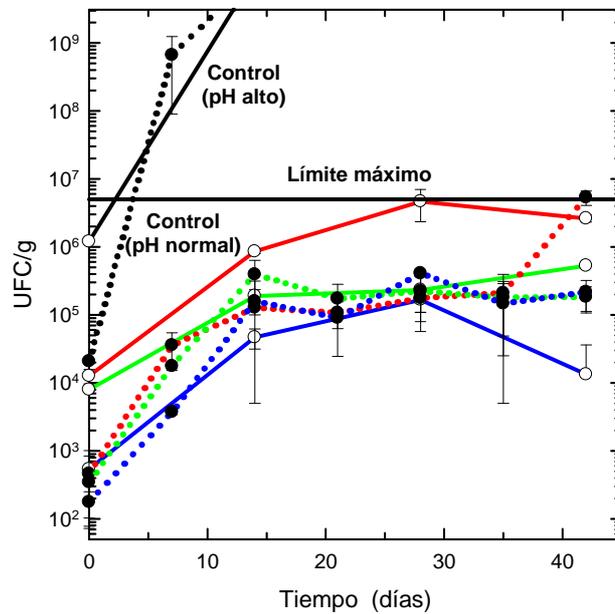


Figura 4.1. Variación con el tiempo de UFC/g en carne con pH > 6.0 (líneas continuas) y con pH normal (líneas discontinuas) sometida a diferentes presiones (MPa): 310 (roja), 324 (verde) y 345 (azul).

4.1.2. Efectividad de la presión seleccionada sobre microorganismos patógenos

La Figura 4.1 muestra que el tratamiento a 345 MPa produjo la mayor reducción en UFC/g. Con base en estos resultados se seleccionó esta presión para examinar su efecto sobre el desarrollo de microorganismos patógenos. La Tabla 4.1 muestra las UFC/g al inicio ($t = 0$) después de aplicar una presión de 345 MPa y para una semana de almacenamiento de carnes inoculadas con diferentes microorganismos patógenos. La primera columna de izquierda a derecha muestra el microorganismo que se inoculó, la segunda la cantidad inoculada (UFC/g), la tercera la cantidad presente en cada tiempo en la carne sin tratamiento por API y la cuarta la cantidad presente en cada tiempo en la carne tratada por API.

En la carne tratada por API, se observó una reducción inicial de cinco ciclos logarítmicos en *E. coli* y en *S. typhimurium* (Tabla 4.1). Esto se atribuye a que estas bacterias son Gram negativas y por ello fueron más sensibles al tratamiento por API que las Gram positivas (Rivas-Cañedo y col., 2009) como *S. aureus* para el cual la reducción inicial fue únicamente de dos ciclos logarítmicos. La cuenta de estos

microorganismos a los 7 días de almacenamiento mostró una reducción adicional para *E. coli* y *S. typhimurium*. Estas bacterias no sólo dejaron de desarrollarse, sino que además ocurrió un daño irreversible al inicio (t = 0) del almacenamiento. En el caso de *S. aureus* la reducción fue de dos ciclos logarítmicos. Sin embargo, durante el almacenamiento hubo una pequeña reducción que no ocurrió en la carne sin tratamiento por API.

Tabla 4.1. Bacterias patógenas (UFC/g) en carnes sin tratamiento y tratadas a 345 MPa.

Microorganismo	Inóculo	Sin APH	Con APH
0 días			
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	1.1 x 10 ⁸	8.2 x 10 ⁶	6.3 x 10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	3.6 x 10 ⁶	2.5 x 10 ⁵	1.2 x 10 ³
<i>Salmonella typhimurium</i>	1.3 x 10 ⁷	2.0 x 10 ⁵	5.4 x 10 ¹
7 días			
<i>Escherichia coli</i> O157:H7		1.7 x 10 ⁷	1.9 x 10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>		7.3 x 10 ⁵	8.0 x 10 ²
<i>Salmonella typhimurium</i>		1.1 x 10 ⁶	1.0 x 10 ¹

También se hicieron pruebas en carne no inoculada usada como control para determinar la cantidad de patógenos presentes en la carne adquirida en el comercio y el efecto de la aplicación de API sobre estos microorganismos. La primera columna de izquierda a derecha de la Tabla 4.2 muestra el microorganismo buscado, la segunda la cantidad presente en la carne adquirida en el comercio inicialmente (t = 0) y después de una semana y la tercera la cantidad después de tratar la carne a 345 MPa al inicio (t=0) y una semana después.

Tabla 4.2. Bacterias patógenas (UFC/g) en los controles y en carne tratada a 345 MPa.

Microorganismo	Control sin APH	Control con APH
0 días		
<i>Escherichia coli</i>	3 x 10 ¹	ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.5 x 10 ²	1.0 x 10 ⁰
<i>Salmonella typhimurium</i>	ausente	ausente
7 días		
<i>Escherichia coli</i>	3.2 x 10 ²	ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	6.1 x 10 ²	ausente
<i>Salmonella typhimurium</i>	ausente	ausente

La muestra control no mostró *Salmonella* al inicio (t = 0) ni después de una semana de almacenamiento. Sin embargo, mostró presencia de *E. coli* y *S. aureus* después de una semana, aunque no rebasó el límite señalado en la norma. En contraste, en los lotes tratados con alta presión se evitó la presencia de estos microorganismos. Estos resultados son muy similares a los reportados por Rivas-Cañedo et al. (2009)

quienes usaron una presión de 400 MPa a 12 °C por 10 minutos en carne picada de res para evitar la formación de bases volátiles totales.

4.1.3. Microorganismos de descomposición

El seguimiento del crecimiento de una especie proteolítica, i.e. pseudomonas, por un período de 42 días se muestra en la Figura 4.2. La presión aplicada de 345 MPa redujo tres ciclos logarítmicos las UFC/g iniciales (t = 0) para las carnes tanto de pH alto como normal, aunque las *Pseudomonas* sean microorganismos aerobios estrictos se observa que su reducción es debido a la alta presión ya que los controles también fueron empacados al vacío. En las carnes con tratamiento por API se observó una ligera reducción de las UFC/g durante el almacenamiento. Este comportamiento es contrario al de las carnes sin tratamiento las cuales mostraron un aumento en las UFC/g de pseudomonas. Esto demuestra la diferencia de producción en las BVT de la carne tratada y sin tratar (Figura 4.4) debido a la inhibición de las pseudomonas por el tratamiento, sobre todo en la cuarta semana, lo que hace que se prolongue la vida de anaquel de la carne.

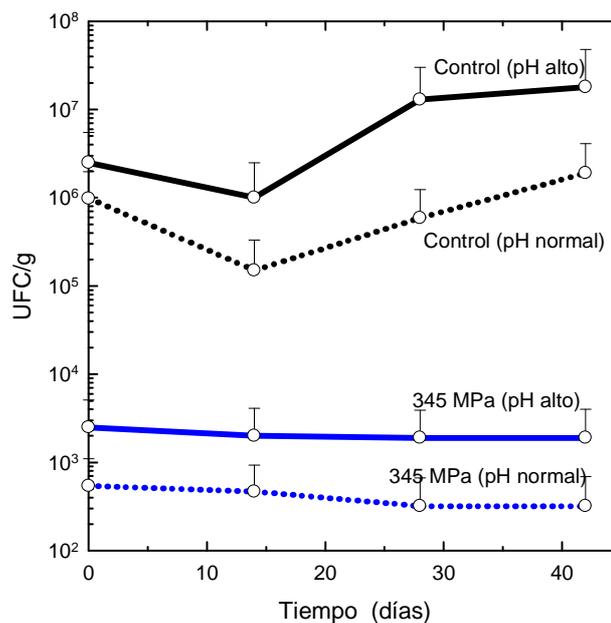


Figura 4.2. Variación con el tiempo de la población de pseudomonas en carnes sin tratamiento y con tratamiento a 345 MPa.

El crecimiento de las bacterias ácido lácticas reduce las UFC/g de los mesófilos aerobios los cuales incluyen a las enterobacterias. Además, disminuye el desarrollo de los microorganismos psicrótrofos así como la tasa de crecimiento de patógenos como *E. coli* y *Salmonella*, entre otros (Lücke, 2000;

Signorini, 2002). Por ello no son microorganismos indeseables en la carne fresca. La Figura 4.3 muestra el cambio con el tiempo de las UFC/g de lactobacilos en carnes no tratadas por API y en carnes tratadas a 345 MPa. El tratamiento a 345 MPa resultó en una disminución en las UFC/g de lactobacilos de dos ciclos logarítmicos al inicio del almacenamiento ($t = 0$). Sin embargo, durante el almacenamiento se observó crecimiento de lactobacilos en la carne sin tratamiento por API desde el inicio del almacenamiento y un incremento en el número UFC/g de lactobacilos a partir de la segunda semana en las carnes tratadas a 345 MPa. El aumento se mantuvo hasta la cuarta semana de almacenamiento y alcanzó una cantidad relativamente grande de aproximadamente $5.0 \log \text{ UFC/g}$ (10^5) y $5.6 \log \text{ UFC/g}$ (4×10^5), para los dos tipos de carne. Este comportamiento contrasta con el de *pseudomonas* el cual varió ligeramente y mostró una cantidad pequeña en comparación con las carnes sin tratamiento por API. Esto podría deberse a que el tratamiento por API tiene un mayor efecto sobre el desarrollo de microorganismos Gram negativos que de Gram positivos como los lactobacilos. Entre los 30 y 40 días de almacenamiento las UFC/g disminuyeron debido a que a la acidez presente en la carne.

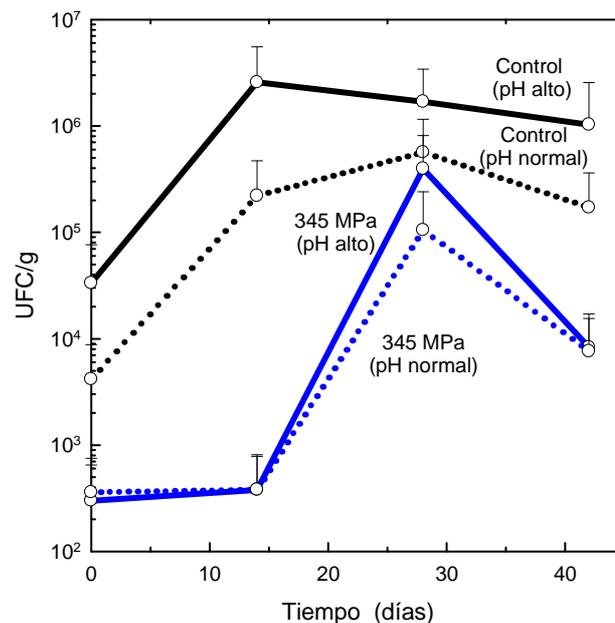


Figura 4.3. Variación con el tiempo de la población de lactobacilos en carnes sin tratamiento y con tratamiento a 345 MPa.

4.2. Bases volátiles totales (BVT)

Las Figuras 4.1 y 4.4, muestran que al inicio del almacenamiento ($t = 0$) la carne con pH alto mostró una mayor concentración de mesófilos aeróbios y BVT debido a que el pH alto favorece el desarrollo

microbiano y por lo tanto un mayor grado de descomposición. En la Figura 4.4 se observa que las carnes empleadas como controles tanto de pH normal (alrededor de 5.5) como de alto (> 6) sin tratamiento por API, no son aptas para consumo aproximadamente a los doce y veintidós días de almacenamiento, respectivamente, ya que la concentración de BVT es superior a la establecida por la norma. Lo anterior tomando en cuenta que se mantuvieron en refrigeración empacadas al vacío. Las muestras de carne con pH > 6.0 tratadas a 310 y 324 MPa y la de carne con pH normal tratada a 310 MPa alcanzaron el límite máximo de BVT señalado por la norma hasta la cuarta semana de almacenamiento. Para las carnes normales y de pH alto el mejor tratamiento fue a 345 MPa, dado que incluso a los 35 y 40 días de almacenamiento su concentración de BVT fue inferior al límite máximo señalado en la norma, además de haber diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los diferentes tratamientos y siendo siempre el mejor el de 345 MPa.

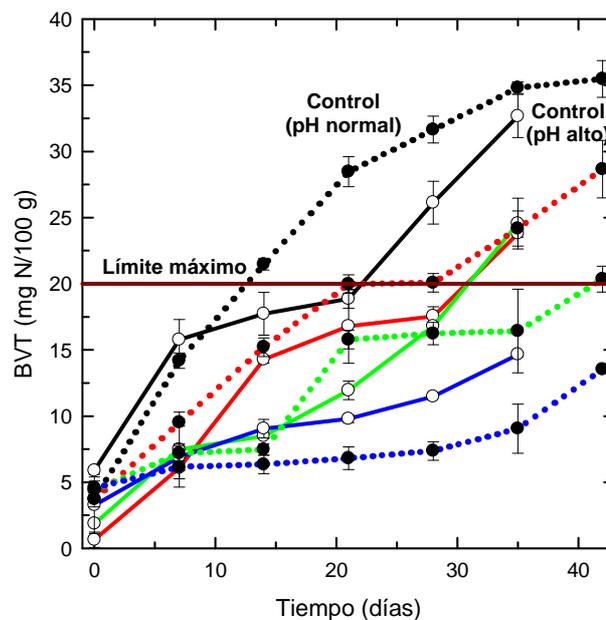


Figura 4.4. Variación con el tiempo de las BVT en carne de pH alto (líneas continuas) y carne de pH normal (líneas discontinuas) sometida a diferentes presiones (MPa): 310 (roja), 324 (verde) y 345 (azul).

4.3. Índice de acidez

Este índice se expresa como ácido láctico (%) dado que este compuesto es el principal metabolito producido por las bacterias ácido lácticas homofermentativas. Este ácido es uno de los de mayor distribución en la naturaleza y el más empleado con fines de conservación (Lücke, 2000). Por lo tanto su

presencia no se considera inaceptable. El índice de acidez de las carnes no tratadas por API fue similar al de las tratadas a 345 MPa como se observa en la Figura 4.5. Esto sugiere que la presencia de ácido láctico no es debida únicamente a la presencia de microorganismos lácticos, sino también a la descomposición autolítica del glucógeno en ácido láctico y que el tratamiento por alta presión no inhibe la producción de este compuesto de manera significativa como lo hace con las bases volátiles totales. Sin embargo, a diferencia del ácido láctico estas últimas son consideradas como productos de descomposición que afectan la calidad de la carne (Fennema, 2010).

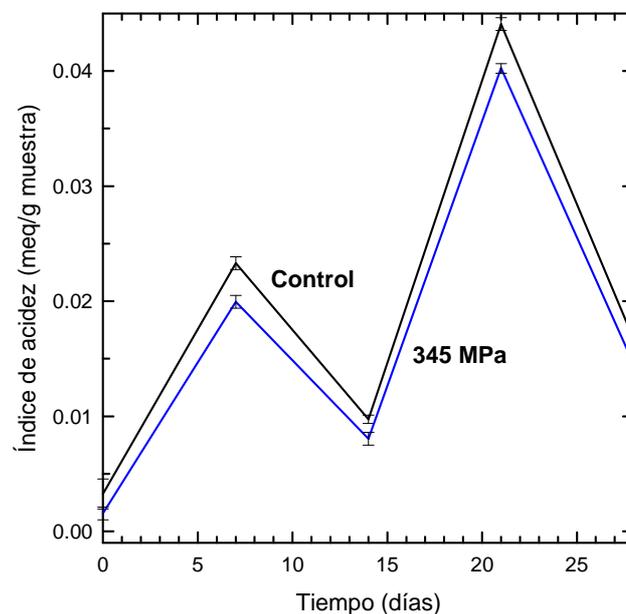


Figura 4.5. Variación con el tiempo del índice de acidez en carne sin tratamiento y con tratamiento a 345 MPa.

4.4. pH

El pH de la carne cruda varía entre 5.7 y 7.2. La Figura 4.6 muestra que después de tratar la carne con pH alto a 324, 345 y 310 MPa al inicio del almacenamiento ($t = 0$) el pH aumentó en 0.11, 0.18 y 0.37 unidades, respectivamente, en relación con los correspondientes controles. El mayor aumento ocurrió para 310 MPa y el menor para 324 MPa. Estos resultados no permiten establecer una tendencia en relación con el efecto del aumento o de la disminución de la presión de tratamiento. Este pequeño incremento de pH puede atribuirse a la exposición de los grupos ácidos de los aminoácidos. Este fenómeno ha sido observado en el músculo *Longissimus dorsi* a 20 °C en un intervalo de 200 a 800 MPa

(Ma & Ledward, 2004). El análisis estadístico muestra que no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las presiones de 324 y 345 MPa con respecto al control. En el caso de la carne de pH normal también se observó un incremento de 0.3 unidades de pH para las presiones de 310 y 324 MPa y un menor incremento de 0.1 unidades para la presión de 345 MPa. Esto indica que existe un menor cambio de pH a mayor presión de tratamiento en la carne de pH normal.

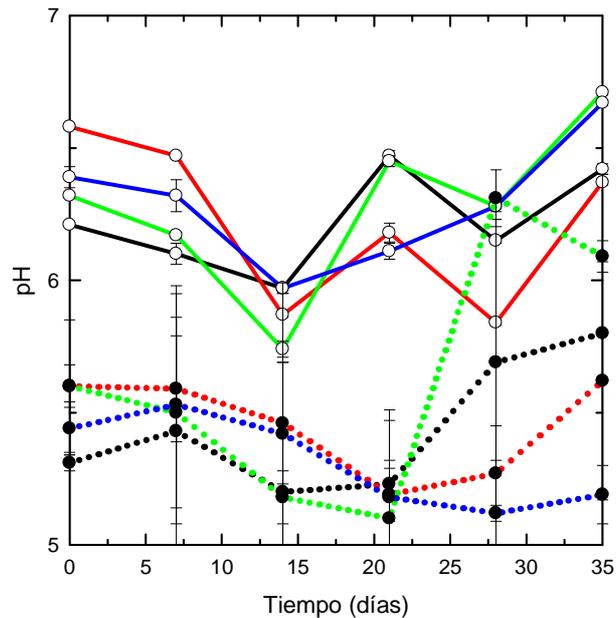


Figura 4.6. Variación con el tiempo del pH en carne de pH alto (líneas continuas) y de pH normal (líneas discontinuas) sometida a diferentes presiones (MPa): Control (negro), 310 (roja), 324 (verde) y 345 (azul).

Desde el inicio del almacenamiento ($t = 0$) se observa una acidificación de la carne que continua hasta las dos semanas en el caso de la carne con pH alto y hasta las tres semanas en el caso de la carne con pH normal. Esta acidificación es debida a la degradación del glucógeno en ácido láctico por las bacterias lácticas como se observa en la Figura 4.3 para el crecimiento de lactobacilos y en la Figura 4.5 para el índice de acidez. Después de la tercera semana, el pH aumentó debido a la formación de compuestos aminados como se muestra en la Figura 4.4 para las BVT. Este aumento no es debido exclusivamente a la presencia de pseudomonas ya que su población no aumentó de manera notable en la carne tratada por API como se observa en la Figura 4.2.

4.5. Capacidad de retención de agua (CRA)

La capacidad de retención de agua no mostró diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las carnes tratadas a 324 y 345 MPa, con respecto a sus correspondientes controles. Sin embargo, existen grandes variaciones durante el período de almacenamiento lo que hace difícil seleccionar el mejor tratamiento. No existen reportes del efecto de la API sobre la CRA, pero Fernández-Martín et al. (2000) no observaron diferencia significativa ($p > 0.05$) en la pérdida de humedad de carne tratada por API y carne fresca. Sin embargo, encontraron una gran pérdida de humedad en muestras congeladas. Como se observa en la Figura 4.7, la mayor CRA se presentó en carne tratada a 345 MPa en la tercera semana. A esta misma presión la CRA fue la menor de todas en la primera y en la cuarta semanas. La CRA de la carne tratada a 310 MPa muestra una mayor variación. Sin embargo, fue inferior a todas en la tercera y en la quinta semanas.

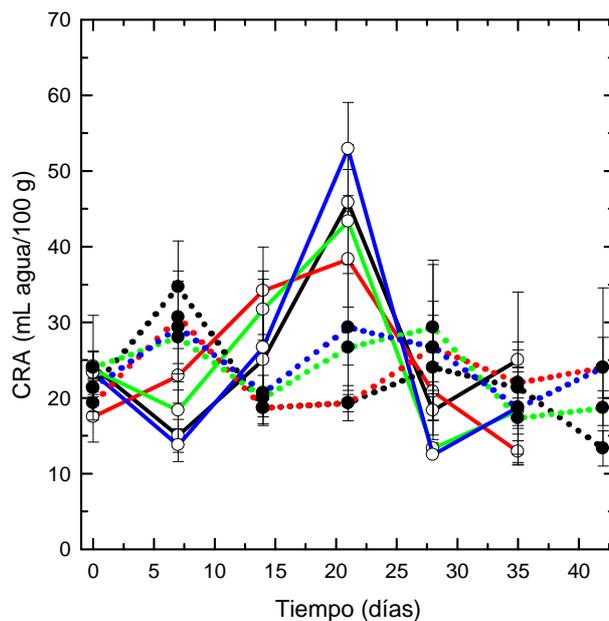


Figura 4.7. Variación con el tiempo de la CRA en carne DFD (líneas continuas) y PSE (líneas discontinuas) sometida a diferentes presiones (MPa): Control (negra), 310 (roja), 324 (verde) y 345 (azul).

Las Figuras 3.3(c) y (d) del Capítulo III muestran que presiones mayores de 345 MPa producen un cambio de color indeseable y provocan la exudación de líquido. Esto sugiere que los sitios hidrofóbicos de las proteínas quedan expuestos debido a su desnaturalización. La disminución en la CRA durante las dos primeras semanas de almacenamiento está asociada con la disminución en el pH según se observa en

la Figura 4.6 para el mismo período. Los resultados de la variación con el tiempo de la CRA y del pH son congruentes con los de actividad microbiana y de formación de BVT que provocan un aumento en el pH. Por lo tanto, mayores niveles de CRA después de la tercera semana pueden atribuirse a la producción de estos compuestos, lo que puede ser confirmado por el aumento de las BVT.

4.6. Hipoxantina

La frescura de la carne puede ser evaluada por medio de la degradación de moléculas como los nucleótidos. La concentración de adenosin trifosfato (ATP) y de sus productos de degradación se lleva a cabo a diferente velocidad en la medida en que las condiciones ambientales las afectan. Dentro de los principales indicadores se encuentran el ATP, el inosin monofosfato (IMP) y la hipoxantina. Un aumento en la concentración de hipoxantina a expensas de los nucleótidos indica una pérdida de la frescura. Por ello se determinó la concentración de este compuesto para comparar su formación en carne tratada por API y en carne sin tratamiento. La Figura 4.8 muestra que la presencia de la hipoxantina en las primeras dos semanas de almacenamiento fue imperceptible. Sin embargo, en la tercera semana se observó un rápido incremento en la concentración de hipoxantina, pero con una notable diferencia entre la carne sin tratamiento y la carne tratada por API. En esta última la concentración fue casi 50% menor en la cuarta semana de almacenamiento. Este resultado muestra que el tratamiento por API logra retrasar la descomposición de los nucleótidos y por lo tanto alarga el tiempo de conservación de la carne.

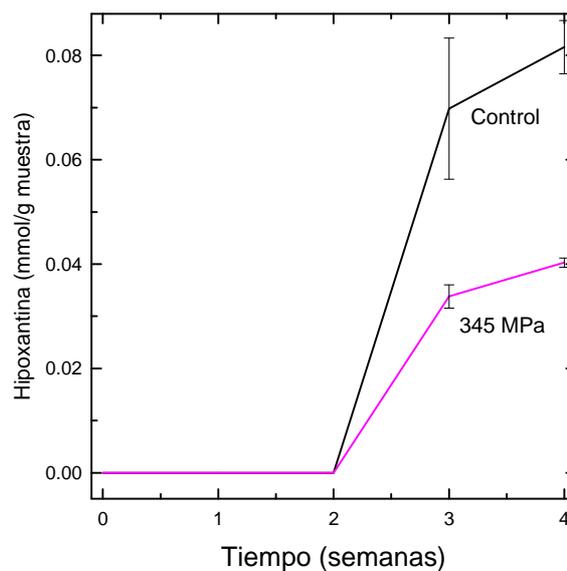


Figura 4.8. Variación con el tiempo de la concentración de hipoxantina en carne tratada a 345 MPa.

4.7. Color instrumental

En la Tabla 4.3 se muestran los resultados obtenidos en el colorímetro.

Tabla 4.3. Parámetros de color.

0 días					
Muestra	L*	a*	b*	c*	h ⁰
Control	43.9 ± 0.6 ^{ab}	5.5 ± 1.4 ^a	8.6 ± 0.4 ^a	10.2 ± 1.0 ^a	58.3 ± 6.1 ^b
310 MPa	42.3 ± 3.5 ^a	10.1 ± 1.0 ^b	9.6 ± 1.5 ^a	13.9 ± 1.7 ^b	43.6 ± 2.1 ^a
324 MPa	43.1 ± 0.7 ^{ab}	8.1 ± 2.0 ^b	9.3 ± 1.2 ^a	12.3 ± 2.2 ^{ab}	49.3 ± 3.4 ^a
345 MPa	40.0 ± 0.3 ^a	8.3 ± 0.7 ^b	8.0 ± 0.3 ^a	11.5 ± 0.6 ^{ab}	44.2 ± 1.8 ^a
15 días					
Muestra	L*	a*	b*	c*	h ⁰
Control	53.2 ± 0.7 ^b	6.7 ± 0.9 ^a	13.9 ± 1.1 ^a	15.4 ± 1.3 ^a	64.3 ± 2.3 ^b
310 MPa	49.5 ± 2.2 ^a	11.6 ± 1.6 ^c	13.0 ± 2.3 ^a	17.5 ± 2.8 ^a	48.0 ± 1.1 ^a
324 MPa	48.8 ± 0.3 ^a	9.8 ± 1.7 ^{bc}	12.1 ± 1.0 ^a	15.6 ± 1.9 ^a	51.1 ± 2.7 ^a
345 MPa	49.7 ± 2.3 ^a	8.8 ± 0.7 ^{ab}	12.0 ± 1.3 ^a	15.0 ± 0.8 ^a	53.6 ± 4.9 ^a
30 días					
Muestra	L*	a*	b*	c*	h ⁰
Control	36.6±0.7 ^a	7.2±1.4 ^a	8.0±1.2 ^a	10.8±1.8 ^a	48.2±1.8 ^a
310 MPa	44.9±0.7 ^c	6.8±1.3 ^a	11.2±0.5 ^{bc}	13.1±0.8 ^{ab}	58.7±4.8 ^b
324 MPa	39.5±1.1 ^b	10.8±1.8 ^b	10.1±0.9 ^a	14.8±1.5 ^{bc}	43.3±5.1 ^a
345 MPa	46.1±2.5 ^c	10.6±1.5 ^b	12.4±0.9 ^c	16.3±1.5 ^c	49.6±3.1 ^a
45 días					
Muestra	L*	a*	b*	c*	h ⁰
Control	35.8 ± 0.3 ^{ab}	5.9 ± 0.2 ^a	5.8 ± 0.3 ^a	8.3 ± 0.4 ^a	44.8 ± 0.6 ^a
310 MPa	39.9 ± 0.3 ^c	7.2 ± 0.1 ^b	6.7 ± 0.0 ^b	9.8 ± 0.1 ^c	43.2 ± 0.6 ^a
324 MPa	35.9 ± 0.4 ^b	6.1 ± 0.3 ^a	7.7 ± 0.1 ^c	9.8 ± 0.3 ^c	51.8 ± 0.9 ^c
345 MPa	36.0 ± 0.1 ^a	6.0 ± 0.0 ^a	6.5 ± 0.1 ^b	8.8 ± 0.1 ^b	47.5 ± 0.3 ^b

^{abc} Distintas letras indican que existe diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las muestras. Los resultados son un promedio de tres réplicas.

Cuando el valor de la coordenada L* es superior a 60, el color se considera claro y cuando es inferior a ese valor se considera oscuro (Escamilla Morón, 2006). La coordenada L* (luminosidad) es el índice que más se relaciona con las variaciones visuales del consumidor. Al inicio del almacenamiento ($t = 0$)

la coloración fue oscura (Figura 4.9); la carne tratada a 345 MPa fue la más oscura. Sin embargo, el análisis estadístico revela que no hay diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las muestras. La luminosidad de la carne depende de varios factores, entre ellos, el pH, la CRA y la integridad de la estructura muscular (Escamilla Morón, 2006). Como se muestra en la Figura 4.6 el mínimo pH ocurrió a los quince días y esto corresponde con el valor máximo de la coordenada L^* (Figura 4.9). La coordenada c^* indica la cromaticidad o saturación del color y es el vector resultante de las coordenadas a^* y b^* . El atributo positivo de a^* es el rojo. Un mayor valor de la coordenada a^* es atribuido a una mayor concentración de mioglobina, es decir, a una mejor calidad y mayor aceptación por la carne (Pérez-Álvarez y col., 1998). Después de 30 días de almacenamiento hay diferencia significativa ($p < 0.05$) en la coordenada a^* entre la carne control y la carne tratada a 310 MPa con respecto a las presiones de 324 y 345 MPa; a estas presiones el color en mostró una disminución posterior hasta los 45 días de almacenamiento como se muestra en la Figura 4.10.

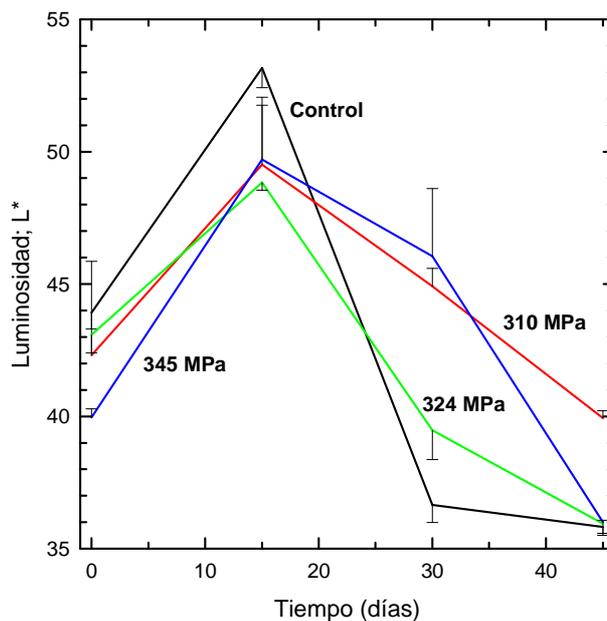


Figura 4.9. Cambios durante el almacenamiento de la coordenada L^* (luminosidad) en carnes sin tratamiento y con tratamiento por APH.

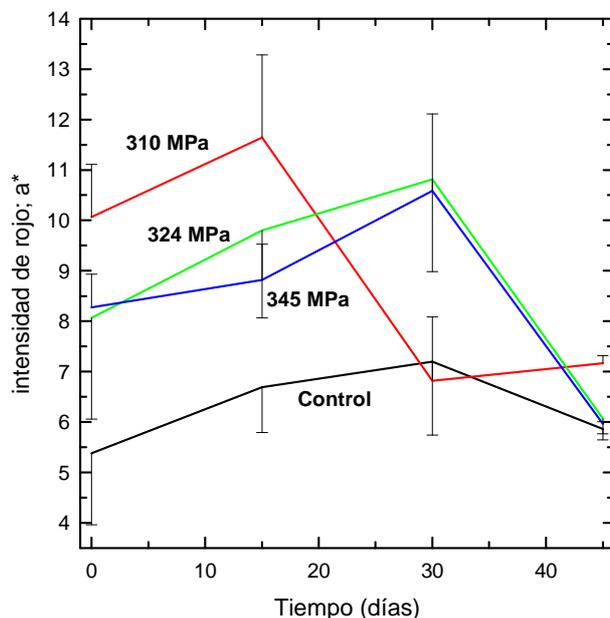


Figura 4.10. Cambios durante el almacenamiento de la coordenada a* (rojo) en carnes sin tratamiento y con tratamiento por APH.

El último atributo del sistema CIE es h° , el cual indica el ángulo de ubicación del color de la muestra. En el caso de los cortes de bovino, un valor cada vez menor de h° representa tonos más rojos. Por lo tanto, las carnes tratadas por alta presión muestran mejores características. Los resultados obtenidos por Fernández-Martín et al. (2000) son muy diferentes de los nuestros, debido posiblemente a que el color fue medido en un equipo Hunter y no se usó el sistema CIEL*a*b*. No obstante, es posible comparar tomando como referencia la carne sin tratamiento. Sin embargo, Padilla-Guerrero (2009) quien usó el mismo modelo de colorímetro y las mismas condiciones de medición que los usados en este trabajo reporta valores muy similares para filete, los cuales se muestran en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4. Parámetros de color en filete.

Corte	L*	a*	b*	c*	h°
Filete	44.6 ± 1.7	10.2 ± 0.7	13.0 ± 1.4	16.8 ± 3.1	51.5 ± 8.3

El color es producto de la resonancia del grupo hemo de la mioglobina, así como del estado de oxidación en el cual se encuentra el ion hierro. Cuando el sexto enlace de coordinación se encuentra libre, la mioglobina (Mb) se denomina desoximioglobina (DMb) y presenta un color púrpura. Cuando el enlace se encuentra ocupado con el oxígeno se denomina Oximioglobina (OMb) y su coloración es rojo cereza

o brillante, el cual es el más deseado por los consumidores; por este motivo se deja la carne en ventilación aproximadamente 15 minutos antes de su venta. Finalmente cuando el hierro tiene un estado de oxidación Fe III y está unido a una molécula de agua se llama metamioglobina (Pérez-Álvarez y col., 1998). El contenido de estos pigmentos se puede estimar a partir de los espectros de reflectancia como se mencionó en el Capítulo I, sección 1.15. Como información complementaria para analizar el color, se calcularon las concentraciones de metamioglobina, mioglobina y oximioglobina por el método de Tang et al. (2004) quienes modificaron el método de Krzywicki (1979). Los resultados se muestran en las Figuras 4.11, 4.12 y 4.13.

La metamioglobina, Figura 4.11, que corresponde al estado en el cual la carne presenta un color no deseable, se mantiene prácticamente constante y en baja concentración en todas las carnes tratadas por API, incluso en el control, con excepción de los 15 días, lo que confirma que la carne mantiene un color aceptable. Los otros dos estados mostrados en las Figuras 4.12 y 4.13, son deseables y no representan problema alguno al estar presentes en gran concentración. La oximioglobina que es deseable para los consumidores es más abundante de los 15 a los 30 días, sin embargo, puede lograrse el incremento de su presencia al exponerse al aire 15 minutos antes de su venta siempre y cuando se mantengan los niveles de metamioglobina bajos y los de mioglobina altos.

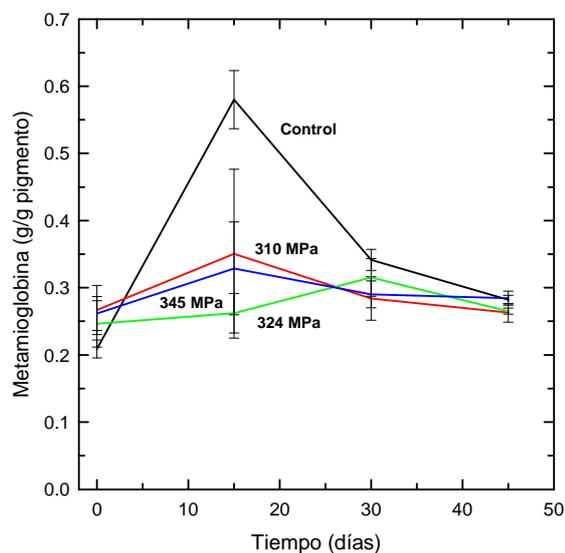


Figura 4.11. Variación de la concentración de metamioglobina en carnes sin tratamiento y tratadas por API.

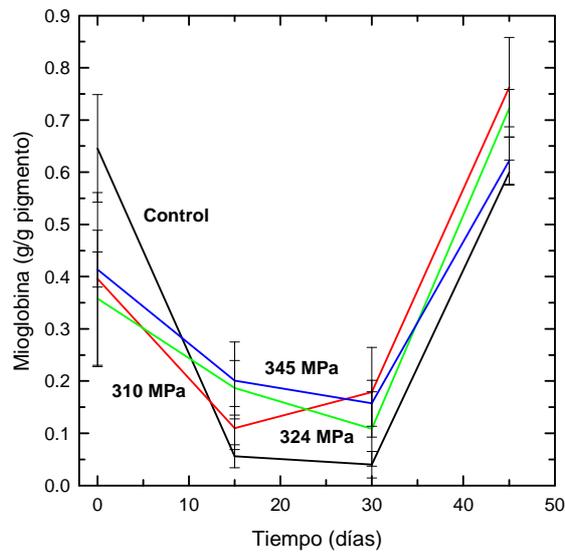


Figura 4.12. Variación de la concentración de mioglobina en carnes sin tratamiento y tratadas por APH.

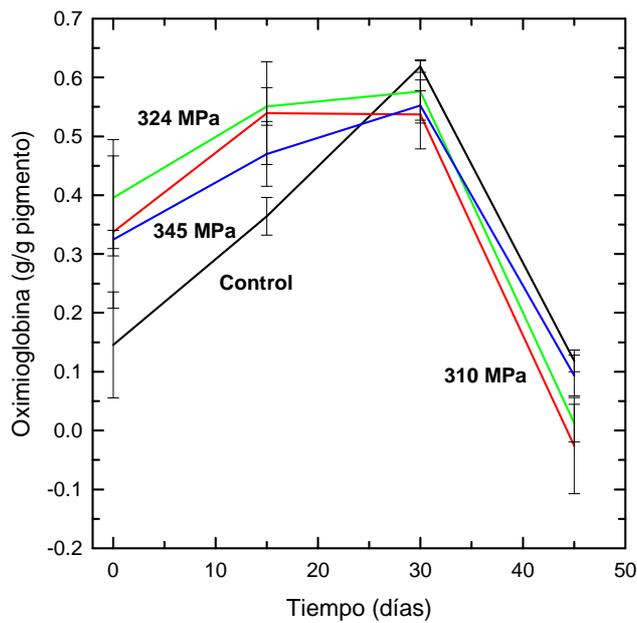


Figura 4.13. Variación de la concentración de oximioglobina en carnes sin tratamiento y tratadas por APH.

4.8. Propiedades mecánicas

La Figura 4.14 muestra una curva característica de la prueba de terneza hecha con la celda Warner Bratzler (WB). La fuerza de corte está dada por el máximo en la curva. La Figura 4.15 muestra el comportamiento típico observado durante la prueba de análisis de perfil de textura. La terneza o fuerza

de corte y las propiedades mecánicas determinadas a partir del análisis de perfil de textura se muestran en la Tabla 4.5.

La dureza es la propiedad mecánica más importante ya que determina la calidad de la carne. Aunque aparentemente la dureza disminuyó después de haber tratado la carne por API, el análisis estadístico muestra que no hay diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los controles y las carnes tratadas por API. La disminución de la dureza en estas últimas comparada con la de los controles está relacionada con la modificación de las miofibrillas del músculo (Jung et al. (2000b)). Con base en esto es posible afirmar que nuestros resultados de las pruebas mecánicas no revelan diferencias en la estructura de la miofibrilla. Sin embargo, existe la posibilidad de que las técnicas WB y TPA no sean suficientemente sensibles para detectar estas posibles modificaciones en la estructura de la carne, en cuyo caso tendría que recurrirse a una técnica como la microscopia para examinar este aspecto.

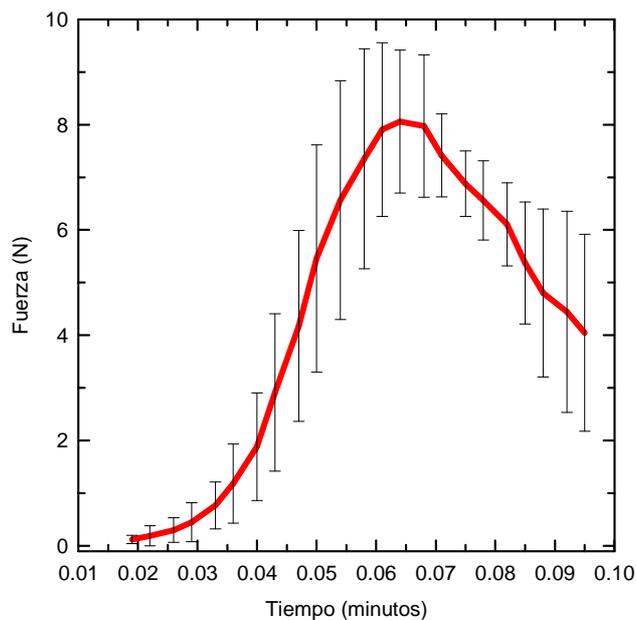


Figura 4.14. Curva obtenida con la celda WB.

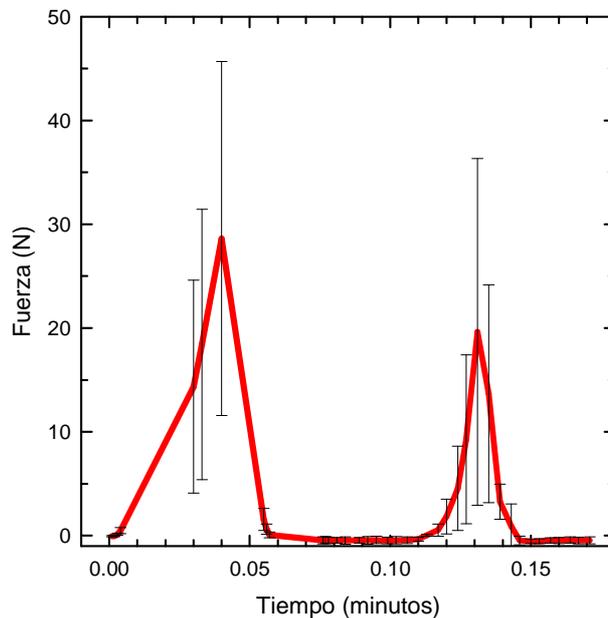


Figura 4.15. Curva típica de TPA.

En relación con las otras propiedades mecánicas mostradas en la Tabla 4.3 tampoco existe diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los controles y las muestras tratadas por API. Por ello, se puede concluir que a estas presiones no existen cambios en las propiedades mecánicas de la carne. No obstante, durante el almacenamiento se observó cierta fluctuación no significativa y se logró estabilidad por un período de almacenamiento de 45 días.

La adhesión es otro atributo que pudiera llegar a ser importante ya que una carne adhesiva es desagradable para los consumidores. Sin embargo, no se observó adhesión en ninguna de las muestras aun a los 45 días de almacenamiento. La elasticidad disminuyó pero se recuperó en el almacenamiento.

4.9. Costo de la API

En la Figura 4.16 se muestra el diagrama del equipo de alta presión. Para funcionar requiere un suministro de aire con una presión de 0.86 MPa, la cual se alcanza mediante un compresor que tiene una potencia de 5 hp. El aire comprimido es filtrado para evitar que pasen gotas de aceite y partículas contenidas en el aire. Una vez filtrado acciona las válvulas neumáticas 1 y 2 necesarias y pone en marcha a la bomba de baja y de alta presión. Esta última solo opera cuando la presión deseada dentro de la cámara es superior a 270 MPa. Por otro lado se encuentra la entrada de agua la cual también es

filtrada y pasa por las bombas para lograr la presión requerida en la cámara que contiene el alimento a tratar.

Tabla 4.5. Terneza WB y propiedades mecánicas TPA de carne sin tratamiento y tratada por API.

	WB	TPA			
0 días					
Muestra	Terneza (N)	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesión	Masticación
Control	13.8 ± 4.3 ^a	37.3 ± 15.1 ^a	0.4 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	3.6 ± 2.7 ^a
310 MPa	8.5 ± 1.6 ^a	20.0 ± 20.4 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.3 ^a	1.2 ± 1.2 ^a
324 MPa	12.3 ± 0.5 ^a	26.2 ± 28.0 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	1.3 ± 0.9 ^a
345 MPa	11.9 ± 3.4 ^a	30.6 ± 11.5 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.8 ± 0.0 ^a
15 días					
Control	9.00 ± 2.0 ^a	9.90 ± 0.3 ^b	0.4 ± 0.0 ^{ab}	0.23 ± 0.1 ^a	1.0 ± 0.2 ^a
310 MPa	11.8 ± 1.5 ^{ab}	16.4 ± 2.9 ^c	0.4 ± 0.0 ^b	0.37 ± 0.1 ^a	2.7 ± 0.8 ^b
324 MPa	13.9 ± 3.1 ^b	7.60 ± 0.7 ^{ab}	0.4 ± 0.0 ^a	0.30 ± 0.1 ^{ab}	0.9 ± 0.3 ^a
345 MPa	12.1 ± 1.9 ^b	5.10 ± 1.5 ^a	0.4 ± 0.0 ^b	0.37 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.4 ^a
30 días					
Control	11.8 ± 1.7 ^a	7.9 ± 1.9 ^a	0.4 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.3 ^a
310 MPa	13.5 ± 1.3 ^a	21.0 ± 2.1 ^a	0.4 ± 0.0 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	1.1 ± 0.2 ^a
324 MPa	10.9 ± 1.3 ^a	6.50 ± 2.2 ^a	0.4 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.9 ± 0.5 ^a
345 MPa	11.4 ± 3.1 ^a	21.3 ± 19.9 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	1.1 ± 0.9 ^a
45 días					
Control	8.50 ± 1.7 ^a	11.8 ± 8.0 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.1 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.3 ^a
310 MPa	13.5 ± 1.0 ^c	15.8 ± 4.0 ^a	0.4 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	2.0 ± 1.2 ^{ab}
324 MPa	12.0 ± 2.5 ^{bc}	24.0 ± 13.2 ^a	0.4 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	3.4 ± 1.4 ^b
345 MPa	9.80 ± 1.2 ^{ab}	11.1 ± 12.8 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	0.4 ± 0.3 ^a

^{abc} Distintas letras indican que existe diferencia estadísticamente significativa entre las muestras, $p < 0.05$. Los resultados son un promedio de tres réplicas.

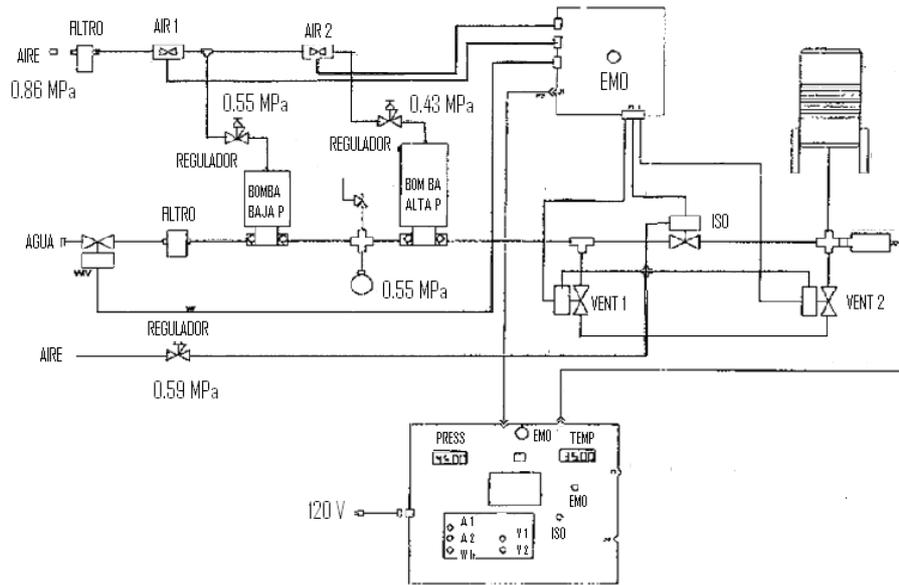


Figura 4.16. Diagrama del equipo de alta presión hidrostática Elmhurst Systems Engineering.

Con el propósito de estimar el costo de la API se hizo el cálculo de energía para 345 MPa. Los equipos que requieren energía son el compresor y las bombas. Se tomaron los tiempos durante los cuales para calcular el consumo de energía aproximado. Los tiempos fueron medidos durante la operación del equipo de alta presión. La potencia del compresor y de las bombas de baja y alta presión son las indicadas por los fabricantes de estos equipos. La Tabla 4.6 muestra los tiempos y las potencias de estos equipos para calcular su gasto energético.

Tabla 4.6. Tiempo y potencia de los accesorios durante la compresión a 345 MPa.

Compresor de aire	Bombas de baja y alta presión
5 hp (3.73 kW)	2.2 hp (1.64 kW)
240 s (0.066 h)	63 s (0.018 h)
96 s (0.026 h)	14 s (0.004 h)
0.34 kWh	0.05 kWh



Además se tomaron en cuenta las tarifas de la Comisión Federal de Electricidad considerando:

Tipos de tarifas:

Doméstico de alto consumo

Negocios y empresas

Temporadas:

Verano

General

Tipos de consumo:

Básico – 0.703 \$/kW·h

Intermedio – 1.169 \$/kW·h

Excedente – 2.473 \$/kW·h

El costo por compresión en cada ciclo considerando 150 g de filete de res es:

Cada ciclo = 0.39 kW·h

Costo más elevado por kW·h = \$2.473

Por cada 150 g se tiene un gasto de \$ 0.96

Cada kg cuesta \$6.40 más de su precio al menudeo en el comercio

Si el precio del filete es de \$120.00/kg su costo sería de 126.40/kg, considerando la tarifa más alta.

Costo final = Incremento entre 1.3 a 2.16%

CONCLUSIONES

Las presiones aplicadas a la carne de bovino disminuyeron las poblaciones de patógenos sin llegar a la inocuidad y mantiene las poblaciones alteradoras de microorganismos retardando la formación de compuestos volátiles responsables del deterioro. Como consecuencia se alargó la vida útil sin cambios significativos en el color y en las propiedades mecánicas. En general, se obtuvieron buenos resultados con las presiones de 310 y 324 MPa, pero el tratamiento a 345 MPa durante 1 minuto a temperatura ambiente mostró los mejores resultados para una condición inicial de la carne tratada. Estos resultados son alentadores ya que muestran que el tratamiento de la carne fresca por API tiene efectos benéficos para la conservación de este alimento, con alto valor nutritivo y sumamente percedero a un costo accesible. El tratamiento por API en combinación con el empacado al vacío y el almacenamiento en refrigeración permitió conservar la carne hasta por 45 días manteniendo su calidad sin adición de conservadores químicos. La carne tratada por API puede ser utilizada para el consumo directo, almacenada como materia prima al menos durante 45 días antes de su transformación en algún producto cárnico o incluso destinarla para exportación siempre y cuando se mantengan las condiciones de almacenamiento usadas en este estudio. Esta investigación sirve como base para la realización de otros proyectos en los cuales se pueden obtener embutidos utilizando presiones más elevadas en los cuales el color rosa sea deseable y dure más tiempo durante el almacenamiento del producto.

REFERENCIAS

- Ahn, D. H., Shimada, K. & Takahashi, K. (2003). Relationship between weakening of z-disks and liberation of phospholipids during post mortem aging of pork and beef. *Journal of Food Science*, 68, 94-98.
- Akaishi, M. & Yamaoka, S. (2000). Crystallization of diamond from C-O-H fluid under high-pressure and high-temperature. *Journal of Crystal Growth*, 209, 999-1003.
- AMSA (1995). *Meat Evaluation Handbook*. American Meat Science Association, USA.
- An, H., Calik, H., He, H., Adams, R. & Morrissey, M. T. (2000). Use of high hydrostatic pressure to control pathogens in raw oysters. *Journal of Shellfish Research*, 19, 655-656.
- Andrés, A., Møller, J., Adamsen, C. & Skibsted, L. (2004). High pressure treatment of dry-cured Iberian ham. Effect on radical formation, lipid oxidation and colour. *European Food Research & Technology*, 219, 205–210.
- AOAC 2005. *Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the AOAC*. 18th Ed. AOAC, Arlington, VA.
- Balasubramaniam, V.M., Farkas, D. & Turek, E.J. (2008). Preserving foods through high-pressure processing. *Food Technology*, 62, 32-38.
- Bridgman, P. W. (1914). The coagulation of albumen by pressure. *Journal of Biological Chemistry*, 19, 511-512.
- Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B. & Velázquez, O. (2009). *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.
- Campus, M., Flores, M., Martínez, A. & Toldrá, F. (2008). Effect of high pressure treatment on colour, microbial and chemical characteristics of dry cured loin. *Meat Science*, 80,1174–1181.
- Cano, P. & Ancos, B. (2005). Advances in use of high pressure to processing and preservation of plant foods. *Food Science &Technology*, 144, 283-309.
- Cheah, P. B. & Ledward, D. A. (1997). Pressure effects on the hypervalent meat pigment ferrylmyoglobin. *Meat Science*, 43, 123–134.
- Cheftel, J. C. (1995). Review: High pressure, microbial inactivation and food preservation, *Food Science and Technology International*, 1, 75-90.
- Cheftel, J.C. & Culioli, J. (1997). Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science*, 46(3), 211-236.

- Cunniff, P. (ed). (1995). Official Methods of Analysis of AOAC International, Vol. II, AOAC International, 15th edition, USA.
- De Heij, W.B.C., van Schepdael, L.J.M.M., Moezelaar, R., Hoogland, H., Matser, A.M. & van den Berg, R.W. (2003). High-Pressure sterilization: Maximizing the benefits of adiabatic heating. *Food Technology*, 57(3), 37-41.
- Escamilla Morón, M.V. (2006). Evaluación instrumental de color en alimentos mexicanos tradicionales y de alto consumo. Tesis Licenciatura, Facultad de Química, UNAM.
- Fennema, O.R. (2010). Química de los Alimentos, 3ed. Ed. Acribia. España
- Fernández-Martín, F., Otero, L., Solas, M.T. & Sanz, P.D. (2000). Protein denaturation and structural damage during high-pressure-shift freezing of porcine and bovine muscle. *Journal of Food Science*, 65(6), 1002–1008.
- García Barrientos, R., Pérez Chabela, L., Guerrero Legarreta, I. & Ponce Alquicira, E. (2003). Maduración de la carne ¿Solución en ganado cebuino? *Tecnología de Alimentos*, 38(2), 18-23.
- Gekko, K. (1992). Effect of pressure on sol-gel transition of food macromolecules. En: *High Pressure and Biotechnology. Colloque Inserm Vol. 244*, 105-113. Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. & Masson, P. (eds.) John Libbey Eurotext/Les Editions Iserm, Mountrouge, France.
- Gómez-Estaca, J., Montero, P., Giménez, B. & Gómez-Guillén, M.C. (2007). Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, 105, 511–520.
- Goulas A. & Kontominas M. (2005). Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 93, 511–520.
- Guerrero, I.; Pérez, Ma. y Ponce E. (2002). Curso práctico de tecnología de carnes y pescado. UA Metropolitana Unidad Iztapalapa
- Hamm, R. (1960). Biochemistry of meat hydration. *Advances in Food Research*, 10, 355-463.
- Hite, B. H. (1899). The effect of pressure on the preservation of milk. *West Virginia Agricultural Experimental Station Bulletin*, 58, 15-35.
- Hori, S., Yamada, M., Ohtani, S., Hori, C., Yokomiso, T., Webb, T. & Shimokawa, T. (2002). Myonase is localized in skeletal muscle myofibrils. *Journal of Biochemistry* 132, 417-425.
- Hui, Y.H., Guerrero, I. & Rosmini, R.M. (2006). *Ciencia y Tecnología de Carnes*. Ed. Limusa, S. A. México.

- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Food) (1996). *Microbial Ecology of Foods 5: Microbiological Specifications of Food Pathogens*. Blackie Academic and Professional. London, England.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for food) (1998). *Microbial Ecology of Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities*. Aspen Publishing. Maryland.
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Food) (2006). *Microbial Ecology of Foods 1: Factors Affecting Life and Death of Microorganisms*. Academic Press, Nueva York.
- Jablonskin, L. M. & Bohach, G. A. (2001). *Staphylococcus aureus*. En: Doyle, M. Beuchat, L. R & Montville. T. J. (eds.) *Food Microbiology Fundamentals & Frontiers*. ASM. USA, pp. 411-434.
- Jay, J., Vilai, J. & Hughes, M. (2003). Profile and activity of the bacterial biota of ground beef held from freshness to spoilage at 5 – 7 degrees C. *International Journal of Food Microbiology*, 81, 105-111.
- Jefferies, L.K, Hansen, C.L. & Steele, F.M. (2012). Translocation and cross-contamination of *E. coli* O157 in beef eye-of-round subprimal cuts processed with high-pressure needleless injection. *Journal of Food Science*, 77(6), E154-E158.
- Jiménez Colmenero, F. (2002). Muscle protein gelation by combined use of high pressure/temperature. *Trends in Food Science and Technology*, 13, 22–30.
- Jung, S., Ghoul, M. & de Lamballerie-Anton, M. (2000a). Changes in lysosomal enzyme activities and shear values of high pressure treated meat during ageing. *Meat Science*, 56, 239-246.
- Jung, S., Ghoul, M. & de Lamballerie-Anton, M. (2000b). Modifications of ultrastructure and myofibrillar proteins of *post rigor* beef treated by high pressure. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 33, 313–319.
- Jung, S., Ghoul, M. & de Lamballerie-Anton, M. (2003). Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 36, 625–631.
- Kerry J., Kerry J. & Ledward, D.A. (eds.) (2002). *Meat Processing: Improving Quality*. CRC, Boca Ratón, USA.
- Kerth, C.R., Blair-Kerth, L.K. & Jones, W.R. (2003). Warner-Bratzler shear force repeatability in beef *Longissimus* steaks cooked with a convection oven, broiler, or clam-shell grill. *Journal of Food Science*, 68, 668-670.

- Kimura, K., Ida, M., Yoshida, Y., Ohki, K., Fukumoto, T. & Sakui, N. (1994). Comparison of keeping quality between pressure-processed jam and heat-processed jam: changes in flavor component, hue, and nutrients during storage. *Bioscience Biotechnology and Agrochemistry*, 58(8), 1386-1391.
- Koohmaraie, M. & Geesink, G. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74(1), 34-43.
- Krzywicki, K. (1979). Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface. *Meat Science*, 3, 1-10.
- Ledward, D. A., Johnston, D. E., Earnshaw, R. G. & Hasting, A.P.M. (1995). *High Pressure Processing of Foods*, Nottingham University Press, Britain.
- Lehninger, A. (2005). *Principios de Bioquímica*. 4ª edición. Ed. Omega.
- Lücke, F. (2000). Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, 56, 105-115.
- Ma, H.J. & Ledward, D.A. (2004). High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. *Meat Science*, 68, 347–355.
- Ma, H. J., Ledward, D.A., Zamri, A.I., Frazier, R.A. & Zhou, G.H. (2007). Effects of high pressure/thermal treatment on lipid oxidation in beef and chicken muscle. *Food Chemistry*, 104, 1575–1579.
- Mackey, B. M., Forestiere, K., Isaacs, N. S., Stenning, R. & Brooker, B. (1994). The effect of high hydrostatic pressure on *Salmonella thompson* and *Listeria monocytogenes* examined by electron microscopy. *Letters in Applied Microbiology*, 19, 429-432.
- Metrick, C., Hoover, D. G. & Farkas, D. F. (1989). Effects of high hydrostatic pressure on heat-resistant and heat-sensitive strains of *Salmonella*. *Journal of Food Science*, 54(6), 1547-1550.
- Morales, P., Calzada, J., Ávila, M. & Núñez, M. (2008). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef by single-cycle and multiple-cycle high-pressure treatments. *Journal of Food Protection*, 71, 811-815.
- Muñoz, J., Suárez-Peñaranda, J., Otero, X., Costas, E. Miguéns, X. & Concheiro, L. (2002). Improved estimation of postmortem interval based on differential behaviour of vitreous potassium and hypoxanthine in death by hanging. *Forensic Science International*, 125(1), 67-74.
- Nollet, L. (2004). *Handbook of Food Analysis: Residues and other food component analysis*. Marcel Dekker, New York.
- Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA1-1993. (1994). Bienes y Servicios. Productos de la carne. Carne molida y carne molida moldeada. Envasadas. Especificaciones Sanitarias. 1994.

- Norma Oficial Mexicana NOM-115-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-030-ZOO-1995, Especificaciones y procedimientos para la verificación de carne, canales, vísceras y despojos de importación en puntos de verificación zoonosanitaria.
- Norton, T. & Sun, D. (2008). Recent Advances in the use of high pressure as an effective processing technique in the food industry. *Food Bioprocess Technology*, 1, 2–34.
- Oey, I., Van der Plancken, I., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2008). Does high pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems? *Trends in Food Science & Technology*, 19, 300-308.
- O'Sullivan, M.G., Byrne, D.V., Martens, H., Gidskehaug, L.H., Andersen, H.J. & Martens, M. (2003). Evaluation of pork colour: prediction of visual sensory quality of meat from instrumental and computer vision methods of colour analysis. *Meat Science*, 65, 909-918.
- Padilla Guerrero, R.A.L. (2009). Estudio de la relación de las características sensoriales y de color en cortes de carne de bovino de alto precio y alto consumo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM.
- Patterson, M. F., Quinn, M., Simpson, R. & Gilmour, A. (1995). Sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphate buffer saline and food. *Journal of Food Protection*, 58, 524-529.
- Pellufo, M. & Rodríguez, M. (2002). Terneza: una característica a tener en cuenta. Instituto Plan Agropecuario, Uruguay. http://Produccionbovina.com/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/02terneza.htm
- Pérez, L., Guerrero, I. & Ponce, E. (2000). Estructura del músculo y conversión en carne. En: *Nuevas Tendencias en la Tecnología e Higiene de la Industria Cárnica*. Rosmini, M. Pérez, J. A. & Fernández, J. (eds.). Universidad Miguel Hernández, Orihuela, España.
- Pérez Álvarez, J. A., Fernández López, J., Sayas Barberá M. E. & Cartagena Gracia, R. (1998). Caracterización de los parámetros de color de diferentes materias primas usadas en la industria cárnica. *Eurocarne*, 63, 15-122.
- Pothakamury, U. R., Barbosa-Cánovas, G. & Swanson, B. G. (1995). The pressure builds for better food processing. *Chemical Engineering Progress*, 6, 45-53.

- Puentes Aguayo, J. E. (2004). Caracterización microbiológica, sensorial y estimación de la durabilidad de carne de bovino con la anomalía de corte oscuro, envasada al vacío. Tesis Licenciatura, Instituto de Ciencia y tecnología de los Alimentos, Valdivia, Chile.
- Ramírez-Orejuel, J. (2009). Estudio para evaluar el efecto de la congelación sobre la reactividad y conformación de las fracciones proteicas de diferentes músculos de bovino a través de colorimetría de barrido diferencial. Tesis Maestría UNAM.
- Rangel, J.M., Sparling, P.H., Crowe, C., Griffin, P.M. & Swerdlow, D.L. (2005). Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982-2002. *Emergent Infectious Diseases*, 11(4), 603-609.
- Rivas-Cañedo, A., Fernández-García, E. & Núñez, M. (2009). Volatile compound in fresh meats subjected to high pressure processing: Effect of the packaging material. *Meat Science*, 81, 321-328.
- Rosenthal, A. (1999). *Food texture: measurement and perception*. Aspen Publishers, Inc. USA.
- Ruiz-Capillas, C. & Jimenez-Colmenero, F. (2004). Biogenic amines in meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 489-499.
- Ruiz de Huidobro, F., Miguel, E., Blázquez, B. & Onega, E. (2005). A comparison between two methods: Warner-Bratzler and texture profile analysis for testing either raw meat or cooked meat. *Meat Science*, 69, 527-536.
- Sagarpa (2006). Situación actual y perspectiva de la producción de carne de bovino en México 2006.
- Sangronis, E., Pothakamury, U., Ramos, A.M. & Barbosa-Cánovas, G. V. (1997). La presión hidrostática: una alternativa en el procesamiento no térmico de alimentos. *Alimentaria*, 35, 33-43.
- Sepúlveda, W.S., Maza, M.T., & Pardos, L. (2011). Aspects of quality related to the consumption and production of lamb meat. *Consumers versus producers*. *Meat Science*, 87(4), 366-372.
- Signorini, M. (2002). Efecto de la fermentación láctica sobre las propiedades funcionales de las proteínas cárnicas. Tesis doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D. F.
- Sikes A., Tornberg E. & Tume, R. (2009a). A proposed mechanism of tenderising post-rigor beef using high pressure-heat treatment. *Meat Science*, 84, 390-399.
- Sikes, A.; Tobin A. & Tume R. (2009b). Use of high pressure to reduce cook loss and improve texture of low-salt beef sausage batters. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 405-412.
- Sorenson, D., Henchion, M., Marcos, B., Ward, P., Mullen, A. & Allen, P. (2011). Consumer acceptance of high pressure processed beef-based chilled ready meals: The mediating role of food-related lifestyle factors. *Meat Science*, 87, 81-87.

- Stewart, M. F., Jewett, F. F., Dunne, C. P. & Hoover, D. G. (1997). Effect of concurrent high hydrostatic pressure, acidity and heat on the injury and destruction of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Safety*, 17, 23-26.
- Styles, M. F. , Hoover, D.G & Farkas, D. F. (1991). Response of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolytica* to high pressure. *Journal of Food Science* 56, 1404-1407.
- Susuki, A., Kim, K., Honma, N., Ikeuchi, Y. & Saito, M. (1992). Acceleration of meat conditioning by high pressure treatment. In: *High Pressure and Biotechnology* pp. 219-227. Edited by C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans. Masson Montrouge, P. Inserm/John Libbey Eurotext Ltd., France.
- Tang, J., Faustman, C. & Hogland T. (2004). Krzywicki Revisited: Equations for Spectrophotometric Determination of Myoglobin Redox Forms in Aqueous Meat Extracts. *Journal of Food Science*, 69(9), 717-720.
- Tatsumi, A. & Takahashi, K. (2003). Structural changes in titin and nebulin filaments specific to calcium ions at 0.1 mM: Factors of meat tenderization during *post mortem* aging. *Journal of Food Science*, 68(3), 756-760.
- Télliez-Luis, S.J., Ramírez, J. A., Pérez Lamela, C., Vázquez M. & Simal Gándara, J. (2001). Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3, 66-80.
- Torres, J.A. & Velázquez, G. (2005). Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods. *Journal of Food Engineering*, 67, 95-112.
- Troy, D. & Kerry, J. (2010). Consumer perception and the role of science in the meat industry Review Article. *Meat Science*, 86(1), 214-226.
- Veflen Olsen, N., Grunert, K.G. & Sonne, A.-M. (2010). Consumer acceptance of high-pressure processing and pulsed-electric field: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 464-472.
- Warris, P. (2003). *Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos*. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Zhang, S.X., Farouk, M.M., Young, O.A., Wieliczko, K.J. & Podmore, C. (2005). Functional stability of frozen normal and high pH beef. *Meat Science*, 69, 765–772.

ANEXO A

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-034-SSA1-1993

BIENES Y SERVICIOS. PRODUCTOS DE LA CARNE. CARNE MOLIDA Y CARNE MOLIDA MOLDEADA. ENVASADAS. ESPECIFICACIONES SANITARIAS.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

JOSE MELJEM MOCTEZUMA, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, por acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 38, fracción II, 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 8o. fracción IV y 13 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud.

PREFACIO

En la elaboración de la presente Norma participaron los siguientes organismos e instituciones:

SECRETARIA DE SALUD

Dirección General de Control Sanitario de Bienes y Servicios

Laboratorio Nacional de Salud Pública

SECRETARIA DE AGRICULTURA Y RECURSOS HIDRAULICOS

Dirección General de Desarrollo Pecuario

PROCURADURIA FEDERAL DEL CONSUMIDOR

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

INDICE

0. INTRODUCCION

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

2. REFERENCIAS

3. DEFINICIONES

4. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

5. CLASIFICACION

6. DISPOSICIONES SANITARIAS

7. ESPECIFICACIONES SANITARIAS

8. MUESTREO

9. METODOS DE PRUEBA

10. ETIQUETADO

11. ENVASE Y EMBALAJE

12. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

13. BIBLIOGRAFIA

14. OBSERVANCIA DE LA NORMA

15. VIGENCIA

0. Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades causadas por alimentos contaminados son uno de los problemas de salud más extendidos en el mundo contemporáneo, siendo la mayoría de estas enfermedades causadas por alimentos contaminados por microorganismos; según los últimos informes, las enfermedades provocadas por alimentos tienden a aumentar. En nuestro país, en el año de 1990 se reportaron 28121 casos de enfermedades intestinales, de las que un alto porcentaje está provocado por el consumo de alimentos contaminados. Los productos objeto de esta Norma, por su versatilidad, son ampliamente consumidos por nuestra población, por lo que elaborar una norma que regule la calidad sanitaria de éstos permitirá proteger la salud de un número importante de consumidores.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana establece las especificaciones sanitarias de la carne molida envasada y la carne molida moldeada envasada.

1.2 Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que se dedican a su proceso o importación.

2. Referencias

Esta Norma se complementa con lo siguiente:

NOM-004-ZOO-1993. Control de residuos tóxicos en carne, grasa hígado y riñón de bovinos, equinos y cerdos.

NOM-051-SCFI-1994. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados.

NOM-087-SSA1-1994. Aves frescas refrigeradas y congeladas. Enteras y troceadas envasadas. Especificaciones sanitarias. *

NOM-092-SSA1-1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.*

NOM-114-SSA1-1994. Método para la determinación de Salmonella en alimentos.*

NOM-115-SSA1-1994. Método para la determinación de Staphylococcus aureus en alimentos.*

NOM-120-SSA1-1994. Buenas prácticas de higiene y sanidad para bienes y servicios. *

3. Definiciones

Para fines de esta Norma se entiende por:

- 3.1 Aditivos para alimentos, aquellas sustancias que se adicionan directamente a los alimentos y bebidas durante su elaboración para proporcionar o intensificar aroma, color, sabor, para mejorar su estabilidad o para su conservación.
- 3.2 Buenas prácticas de fabricación, conjunto de normas y actividades relacionadas entre sí, destinadas a garantizar que los productos tengan y mantengan las especificaciones requeridas para su uso.
- 3.3 Carne molida envasada, al producto obtenido de la carne fresca de animales de los géneros Bos, Suis Ovis, Gallus, procedente de rastros que cumplan con lo establecido en el Reglamento, que es cortada y pasada por un molino o picadora, envasada y refrigerada o congelada para su venta al público.
- 3.4 Carne molida moldeada envasada, al producto obtenido de la carne fresca de animales de los géneros Bos, Suis, Ovis, Gallus, procedente de rastros que cumplan con lo establecido en el Reglamento, que es cortada y pasada por un molino o picadora, adicionada de otros ingredientes, moldeada, envasada y conservada para su venta al público.
- 3.5 Congelación, método de conservación físico que se efectúa por medio de equipo especial para lograr una reducción de temperatura de los productos objeto de esta Norma en su centro térmico a máximo -18°C (255 K), reduciendo los cambios enzimáticos y microbiológicos.
- 3.6 Envase o empaque, todo recipiente destinado a contener un producto y que entra en contacto con el mismo, conservando su integridad física, química y sanitaria. Se considera envase secundario, aquel que contiene al primero. Ocasionalmente agrupa los productos envasados con el fin de facilitar su manejo.
- 3.7 Etiqueta, todo rótulo, marbete, inscripción, imagen u otra forma descriptiva y gráfica, ya sea que esté impreso, marcado, grabado, en relieve, hueco, estarcido o adherido al empaque o envase del producto.
- 3.8 Fecha de caducidad, fecha límite en que se considera que un producto envasado, almacenado en las condiciones sugeridas por el fabricante, reduce o elimina las características sanitarias que debe reunir para su consumo. Después de esta fecha, no debe comercializarse ni consumirse.

3.9 Límite máximo, concentración permitida de aditivos, microorganismos, parásitos, materia extraña, plaguicidas, biotoxinas, residuos de medicamentos, metales pesados y metaloides en un alimento, bebida o materia prima.

3.10 Lote, cantidad de unidades de un producto elaborado en un solo proceso con el equipo y sustancias requeridas, en un mismo lapso para garantizar su homogeneidad. Por lo tanto, no puede ser mayor que la capacidad del equipo ni integrarse con partidas hechas en varios periodos.

3.11 Materia extraña, aquella sustancia, resto, desecho orgánico o no que se presenta en el producto sea por contaminación o por manejo poco higiénico del mismo durante su elaboración, considerándose entre otros: excretas y pelos de cualquier especie, fragmentos de hueso e insectos, que resultan perjudiciales para la salud.

* Proyecto en proceso de expedición como Norma Oficial Mexicana

3.12 Métodos de prueba, los procedimientos analíticos utilizados en el laboratorio para comprobar que un producto satisface las especificaciones que establece la Norma.

3.13 Moldeado, acción por medio de la cual se da a la carne una forma definida.

3.14 Refrigeración, método de conservación físico por el cual se mantiene el producto a una temperatura de 4°C (277 K).

4. Símbolos y abreviaturas

4.1 Cuando en esta Norma se haga referencia a los siguientes símbolos y abreviaturas, se entiende:

UFC unidades formadoras de colonias

BPF buenas prácticas de fabricación

N₂ nitrógeno

pH potencial de hidrógeno

g gramos

rpm revoluciones por minuto

ml mililitros

v volumen

mg miligramos

°C grados Celsius

K grados Kelvin

/ por

Cuando en la presente Norma se mencione al Reglamento, debe entenderse que se trata del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios.

5. Clasificación

Los productos objeto de esta Norma, por su proceso se clasifican en:

5.1 Carne molida envasada

5.2 Carne molida moldeada envasada

6. Disposiciones sanitarias

Los productos objeto de esta Norma, además de cumplir con lo establecido en el Reglamento, deben ajustarse a las siguientes disposiciones:

6.1 Conservarse en refrigeración; en el caso de la carne molida moldeada se permite la congelación.

6.2 No rebasar los límites de contaminantes establecidos en la Norma Oficial Mexicana señalada en el apartado de referencias.

6.3 No presentar alguna de las siguientes anomalías:

Olor, color o sabor anormal

Zonas necróticas

Adhesividad

Quemaduras por congelación.

7. Especificaciones sanitarias

Los productos objeto de este ordenamiento deben cumplir con las siguientes especificaciones:

7.1 Físicoquímicas

LIMITE MAXIMO

N2 amoniacal 20 mg/100 g de muestra

pH 6,5 a 6,8

7.2 Microbiológicas

LIMITE MAXIMO

Mesofílicos aerobios 5 000 000 UFC/g

Salmonella spp Ausente en 30 g de muestra

Staphylococcus aureus 1 000 UFC/g

7.3 Los ingredientes y aditivos para alimentos permitidos para carne molida moldeada son:

LIMITE MAXIMO

Sal yodatada	BPF	
Especias	BPF	
Proteína de soya	2,0%	
Leche entera o descremada	3,5%	
Harina de soya	3,5%	
Harina de cereales, féculas, almidones solos o mezclados		10,0%

7.4 Materia extraña

Los productos objeto de esta Norma deben estar exentos de materia extraña.

8. Muestreo

El procedimiento de muestreo de los productos objeto de esta Norma debe sujetarse a lo que establece la Ley General de Salud.

9. Métodos de prueba

Para la verificación de las especificaciones fisicoquímicas y microbiológicas que se establecen en esta Norma se deben aplicar los métodos de prueba que se indican en el apartado de referencias. Para la determinación del potencial de hidrógeno y del nitrógeno amoniacal deben aplicarse los métodos descritos en los Apéndices Normativos de la NOM-087-SSA1-1994. Aves frescas, refrigeradas y congeladas. Enteras y troceadas envasadas. Especificaciones sanitarias.

10. Etiquetado

La etiqueta de los productos objeto de esta Norma, además de cumplir con lo establecido en el Reglamento y la Norma Oficial Mexicana correspondiente, debe sujetarse a lo siguiente:

10.1 Refrigerados: Incluir las leyendas: "Consérvese en refrigeración", "Este producto debe consumirse bien cocinado" y la fecha de caducidad, indicando día y mes.

10.2 Congelados: Para la carne molida moldeada incluir las leyendas: "Consérvese en congelación a una temperatura máxima de -18°C" y "Una vez descongelada, no debe volver a congelarse" y "Este producto debe consumirse bien cocinado".

11. Envase y embalaje

11.1 Envase

Los productos objeto de esta Norma se deben envasar en recipientes de tipo sanitario elaborados con materiales inocuos y resistentes a las distintas etapas del proceso, de tal manera que no reaccionen con el producto o alteren sus características físicas, químicas y organolépticas.

Asimismo, éstos deben estar envasados de manera que el producto sea visible para el consumidor.

11.2 Embalaje

Se deben usar envolturas de material resistente que ofrezcan la protección adecuada a los envases para impedir su deterioro exterior, a la vez que faciliten su manipulación, almacenamiento y distribución.

12. Concordancia con normas internacionales

Esta Norma no tiene concordancia con normas internacionales.

13. Bibliografía

- 13.1 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1992. Ley Federal sobre Metrología y Normalización. México, D.F.
- 13.2 Secretaría de Salud. 1984: Ley General de Salud. Diario Oficial de la Federación. México, D.F.
- 13.3 Secretaría de Salud. 1988: Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. México, D. F.
- 13.4 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1993: NOM Z-13 "Guía para la Estructuración y Redacción de las Normas Oficiales Mexicanas". México, D.F.
- 13.5 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1993: NOM-008-SCFI-1993. "Sistema General de Unidades de Medida". México,D.F.
- 13.6 FAO/OMS,1978: "Norma Internacional Recomendada para la Carne Picada Curada Molida" (CAC RS 98), Roma. (p.1-2).
- 13.7 Banworth, G., 1989: "Basic Food Microbiology". 2nd. Edition AVI Publishing Co. N. York (p. 205, 223, 246, 282, 298, 372).
- 13.8 Barradas, H; López, P ; Schulze, E.; Pérez, J., 1969: "Control Físico Químico de Productos Cárnicos". Laboratorio Nacional de Salud Pública, SSA, México, D.F. (p. 9-45).
- 13.9 Barragán, H; Fernández, E.: Rev. Latin. Am. Microbiol. Parasitol 11: 125-131, 1969.
- 13.10 Board, R. G., 1990: "Introducción a la Microbiología Moderna de los Alimentos". Ed. Acribia, Zaragoza, España (p. 114, 155, 207).
- 13.11 Cliver, D, 1990: "Foodborne Diseases". Academic Press, San Diego, California, USA (p. 188,266).
- 13.12 Codex Alimentarius, 1985: "Recommended International Code of Hygienic Practice for Processed Meat and Poultry Products". WHO/FAO Roma, Italia (p. 1-19).
- 13.13 Cravioto, R; Massieu, H. G.; Guzmán, G. J.; Calvo, J.: "Ciencia" Vol. XI No.5, pp. 129-155, 1951, México, D.F.
- 13.14 Frazier, W. C.; Westhoff, D., 1978: "Microbiología de los Alimentos". Ed. Acribia, Zaragoza, España (p. 213, 214, 226-231, 235, 236).
- 13.15 Gerrard, F., 1964: "Meat Technology". Leonard Hill, London, England. (p. 320).
- 13.16 Harrigan, W. F.; Mc Cance,M,1976: "Laboratory Methods in Foods and Dairy Microbiology". Academic Press, London (p. 165, 166, 200, 233).
- 13.17 Heinling, H., 1973: "Tecnología Práctica de la Carne". Ed. Acribia, Zaragoza, España (74, 83, 362).
- 13.18 Hernández, M; Chávez, A.; Bourges, H., 1980: "Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos". I.N.N., México, D.F. (p. 14- 17).

- 13.19 INEGI, 1991: "Agenda Estadística de los Estados Unidos Mexicanos". México D.F.
- 13.20 Jay, J. M., 1978: "Microbiología de los Alimentos". Ed. Acribia, Zaragoza, España (p. 28, 31, 32-37, 39, 40, 43-45, 80, 81, 84, 87, 97, 98, 120, 122, 124, 127, 131, 301, 304, 311, 313, 314, 319, 324, 326, 333, 334, 340, 342, 344, 348, 365, 379, 388, 400, 401, 410).
- 13.21 Kietzmann, U; Priebe, K.; 1974 Rakow, D.; Reichstein, K.: "Inspección Veterinaria de Pescados". Ed. Acribia, Zaragoza, España (p. 151-170).
- 13.22 OMS, 1986: "Análisis de Peligros Potenciales Identificación de Puntos Críticos de Control". OMS/OPS Roma (14-167, 19).
- 13.23 OPS, 1990: "Informe Final de la I Reunión de la Red Latinoamericana de Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos". Mar de la Plata, Argentina (p. 6, 11, 12, 14).
- 13.24 Parrilla, C.; Saldate, O; Nicoli, M., 1989: "Manual de Técnicas y Procedimientos para Análisis Microbiológicos de Productos Cárnicos". Laboratorio Nacional de Salud Pública, SSA, México, D.F.
- 13.25 WHO, 1988: "Salmonellosis Control: the role of animal and production hygiene". Technical Report Series No. 744 Geneva (p. 12-14, 32).
- 13.26 Woot Tsuen Leung, 1964: "Tabla de Composición de Alimentos para uso en América Latina". Interamericana, México, D.F.

14. Observancia de la Norma

La vigilancia en el cumplimiento de la presente Norma corresponde a la Secretaría de Salud.

15. Vigencia

La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor, con su carácter obligatorio, a los treinta días siguientes a partir de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 29 de noviembre de 1994.- El Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios, José Meljem Moctezuma.- Rúbrica.

ANEXO B

ESTIMACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE MIOGLOBINA, OXIMIOGLOBINA Y METAMIOGLOBINA POR EL MÉTODO DE TANG, ET AL. (2004)

La reflexión de la luz sobre la superficie se compone por dos términos:

$$A^\lambda = A_a + A_p^\lambda$$

donde:

A^λ , reflexión de la luz

A_a , fracción de luz refractada por los elementos estructurales de la carne

A_p^λ , fracción de luz absorbida por los pigmentos presentes en el tejido

Esta ecuación es sustituida por:

$$A^\lambda = A^{730} + A_p^\lambda$$

A_p^λ , se expresa como: $A_p^\lambda = e^\lambda \cdot c \cdot d$

Donde:

e^λ , es el coeficiente de absorción molar, λ , en nm

c , es la concentración molar de pigmentos

d , es la longitud de onda en la capa superficial

Para la mezcla de los tres derivados de la mioglobina:

$$e^\lambda = x \cdot e_{\text{myo}}^\lambda + y \cdot e_{\text{met}}^\lambda + z \cdot e_{\text{ox}}^\lambda$$

Entonces: $x + y + z = 1$

A 525 nm que es el punto isobéptico y los tres estados tienen el mismo valor.

$$A_p^{525} = A^{525} - A^{730}$$

A 572 nm la mioglobina y oximioglobina tienen el mismo valor.

$$e^{572} = e_{\text{myo=ox}}^{572} \cdot (1 - y) + e_{\text{met}}^{572} \cdot y$$

Para calcular y , la fracción total de metamioglobina considera la proporción:

$$a_1 = \frac{A_p^{582}}{A_p^{557}}$$

El radio de dos absorbancias:

$$a_1 = \frac{e^{582}_{\text{myo}} \cdot (1-y) + e^{582}_{\text{met}} \cdot y}{e^{557}}$$

Después se calcula y:

$$y = 1 \cdot 395 - a_1$$

Donde:

$$a_1 = \frac{A^{582} - A^{730}}{A^{557} - A^{730}}$$

Por analogía a 473 nm:

$$a_2 = \frac{A^{503} - A^{730}}{A^{557} - A^{730}}$$

$$a_2 = \frac{A^{503}}{A^{557}} = \frac{e^{503}_{\text{met=ox}} \cdot (1-x) + e^{503}_{\text{myo}} \cdot x}{e^{557}}$$

$$x = 2 \cdot 375 \cdot (1 - a_2)$$

Finalmente

$$Z = 1 - (x + y)$$

Effect of High Hydrostatic Pressure Treatment on the Preservation of Beef Meat

Beatriz E. Sánchez-Basurto,[†] Mariana Ramírez-Gilly,[†] Alberto Tecante,^{*,†} Patricia Severiano-Pérez,[†] Carmen Wachter,[†] and María A. Valdivia-López[†]

[†]Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, D.F., 04510, México

ABSTRACT: The effect of high hydrostatic pressure was investigated to determine the best treatment conditions to preserve beef meat. The meat was pressurized from 172 to 620 MPa for 1–5 min at 25 ± 2 °C. Intensive color degradation occurred above 345 MPa. No significant reduction in aerobic mesophilic count was observed below 310 MPa. Therefore, 310, 324, and 345 MPa were applied to the meat for 1 min. The pH, water-holding capacity, total volatile bases, CFU/g, color, texture, and tenderness of pressurized and unpressurized meats were assessed for 42 days, while meat was stored at 4 °C. Data showed that pressure treatment produced good results. The color, texture, and tenderness of treated and untreated meats were not statistically different ($p > 0.05$). High hydrostatic pressure preserved meat over a longer time period and is a promising technology for extending the shelf life of raw meat.

1. INTRODUCTION

High hydrostatic pressure (HHP) processing is an innovative technology for food preservation because it inactivates pathogenic and spoilage microorganisms and enzymes with minimal effects on quality attributes, such as color, flavor, nutritional value, and sensory properties.^{1–3} This technique also has the advantages of being easier to understand and accepted by consumers.³ The commercial opportunities and challenges associated with the high-pressure processing of foods have been comprehensively reviewed.^{4,5} Currently, HHP has commercial applications in the processing of meat, fruit, vegetables, and dairy products as well as fish and other seafood.^{6,7}

Studies on the effects of high pressure on meat and meat products that were conducted during the past century have been thoroughly reviewed.⁸ However, many aspects remain to be investigated, and intensive research on microbiological,^{9–11} physical,¹² chemical,¹³ sensory,¹⁴ structural,¹⁵ and mechanical¹⁶ factors are currently ongoing and particularly involve meat products.

Fresh beef meat is a perishable food that is highly susceptible to microbial contamination before packaging. Although high hydrostatic pressure has been shown to be effective for preserving a wide range of food products, its effectiveness in fresh foods, such as meat, needs to be examined. High hydrostatic pressure can modify the mechanical properties of meat due to changes in the physical structure of its proteins.⁸ In addition, this technique can affect the characteristic color of fresh meat due to changes in the state of myoglobin.^{8,15} Therefore, the best treatment conditions to improve and extend the shelf life of meat need to be determined.

The goal of this work was to determine the best HHP treatment conditions that facilitate the preservation of fresh beef over longer periods of time compared to untreated meat. We aimed to obtain stable, safe, and high-quality food according to physicochemical and microbiological indicators stipulated by official sanitary standards.¹⁷

2. EXPERIMENTAL SECTION

2.1. Raw Material. *Post rigor* bovine meat from *Psoas major* muscle was used. Portions of the muscle were obtained directly from the butchering meat area of a local supermarket near our laboratory in Mexico City. Meat portions were selected and obtained directly from a fresh refrigerated carcass. Packaged meat for retail sale was never used. Meat was obtained on the same day as the pressurization trials.

2.2. High-Pressure Treatment. Meat was vacuum packaged in polyethylene bags prior to each high-pressure experiment. Samples were given only one treatment at each pressure-time combination. Initially, meat was pressurized at 172, 241, 310, 324, 345, 482, and 620 MPa for 1, 3, and 5 min to determine the optimal pressure-time combination. The selection criteria consisted of a lack of undesirable color changes and a decrease in aerobic mesophilic count. Unpressurized samples were used as controls. Meat was pressurized at room temperature (25 ± 2 °C) in a high-pressure laboratory unit (Elmhurst Systems Engineering, Albany, USA) consisting of a 500-mL stainless steel chamber with a thermocouple for temperature measurements. The pressure-time combinations that satisfied the selection criteria were 310, 324, and 345 MPa. Pressures lower than 310 MPa did not change the red color of the treated meat (Figure 1) compared with untreated meat but also did not decrease the microbial population. Pressures higher than 345 MPa and exposure times greater than 1 min changed the characteristic red color of fresh meat (Figure 1) but decreased the aerobic mesophilic count. The maximum temperature rise, i.e. for 345 MPa, was 7 °C. On the other hand, the pressure build up from ambient to 310, 324, and

Special Issue: AMIDIQ 2011

Received: April 29, 2011

Accepted: October 26, 2011

Revised: October 21, 2011

Published: October 26, 2011

101

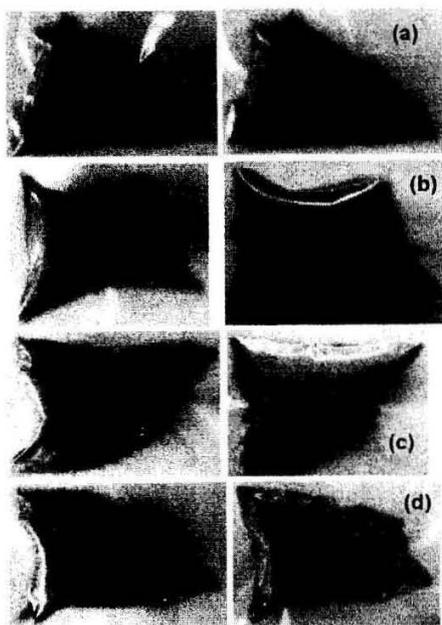


Figure 1. Color of fresh beef meat before (left column) and after (right column) HHP treatment for 1 min at 172 MPa (a), 310 MPa (b), 482 MPa (c), and 620 MPa (d) and an initial temperature of 25 ± 2 °C.

345 MPa was 16.5, 19.9, and 20.1 s, respectively. We also assessed the physicochemical and microbiological characteristics of meat that was pressurized at the selected pressures. The assessed characteristics were monitored over periods of forty-two days and were compared to unpressurized controls. Pressurized and unpressurized meat samples were stored at 4 ± 1 °C (Torrey Refrigerator, Mexico), and specimens were removed for analyses.

2.3. Physicochemical Tests. **2.3.1. pH.** Ten grams of meat were suspended in 100 mL of distilled water, minced completely in a blender, and filtered through a cheese cloth to remove the connective tissue. The pH of the filtrate was measured at 20 °C with a previously calibrated pH meter (Orion, model 420A, USA).¹⁸

2.3.2. Water-Holding Capacity (WHC). Five grams of comminuted meat was placed in a centrifuge tube, and 8 mL of a 0.6 M NaCl solution was added. The mixture was stirred with a glass rod for one minute and placed in an ice bath for 30 min. The tube was centrifuged (Hermle/Labnet Z 200 A, Germany) at 6000 rpm for 15 min. The supernatant was decanted in a graduated glass cylinder, and the volume was measured. The retained volume was the difference between the initial volume in the centrifuge tube and the supernatant volume.¹⁹

2.3.3. Total Volatile Bases (TVBs). The total volatile bases were extracted using steam-distillation. Ten grams of meat was placed in a 125 mL flask to which 100 mL of distilled water and 2 g of magnesium carbonate (99% pure, Sigma-Aldrich, Mexico) were added. Fifty milliliters of extract was collected in a 125 mL flask containing 25 mL of a 4% boric acid (99% pure, Sigma-Aldrich, Mexico) solution and methyl red (analytical grade, Sigma-Aldrich) indicator. This volume was titrated with 0.1 N hydrochloric acid. The TVBs, expressed in mg nitrogen/100 g, were calculated using eq 1¹⁸

$$\text{TVB} = \frac{M_N \cdot \Delta V \cdot 100}{m} \quad (1)$$

where M_N is the molecular weight of nitrogen, ΔV is the volume difference (mL) between the sample and blank titration, and m is the sample mass in grams. According to the sanitary specifications of the official standard,¹⁷ the maximum TVB value is 20 mg nitrogen per 100 g of sample.

2.4. Microbiological Tests. Bacteriological agar (Difco/Plate Count Agar) preparation for counting the colony-forming units (CFU) on Petri dishes (8 cm in diameter) and a 0.1% peptone (Bacto/Enzymatic Digest of protein) solution for dilutions were autoclaved (Presto, Mexico) at 120 °C for 15 min. Twenty-five grams of meat was added to 225 mL of peptone solution in a stomacher bag and homogenized (Homogenizer-Stomacher, 400 circulator Seward, ICTSL, Mexico) for 90 s at high intensity. Further decimal dilutions were made in the same solution and inoculated on agar plates. The plates were incubated at 37 °C for 24 h and aerobic mesophilic bacteria were counted and expressed as CFU/g.

2.5. Instrumental Color. Color measurements were performed through the packaging film at room temperature ($\approx 25 \pm 2$ °C) in a spectrophotometer (Minolta CM - 3600d, Japan). Meat is an opaque object; therefore, color was assessed as the percentage of reflectance with sunlight or daylight incidence D_{65} on the meat sample. Color attributes are expressed using the CIE $L^* a^* b^*$ system. Before each measurement, the spectrophotometer was calibrated with a black metallic plate and a white ceramic plate provided by the manufacturer. The calibration and test conditions were as follows: number of shots or flashes = 1, standard = nil, UV energy = included, mirror component = excluded, lens or vision area = small, detector = 10°, and maximum wavelength = 720 nm.

2.6. Mechanical Properties. **2.6.1. Texture Profile Analysis (TPA).** This test consists of two compression cycles at a given speed from which hardness, fracturability, adhesiveness, cohesiveness, springiness, chewiness, gumminess, and resilience can be determined. The definition of each property has been previously described.¹⁴ Meat cubes of 1 cm were compressed using two cycles at a speed of 120 mm/s with a stainless steel cylindrical probe (3 cm in diameter). Compression was perpendicular to the fiber direction up to 50% of the original height and was conducted in a mechanical testing machine (Sintech 1/S, MTS, USA) with a load cell of 100 N. Figure 2 shows a typical TPA signal for beef meat.

2.6.2. Tenderness. Meat tenderness is related to the ease of cutting and chewing before swallowing and represents the mechanical resistance of the muscle.²² This trait determines the commercial value of the meat.²³ The force required to cut fresh meat is lower than for cooked meat, but less time is required for the cutting of cooked meat.²⁴ Figure 3 shows a characteristic Warner-Bratzler curve with tenderness given by the maximum force. Tenderness was determined using a Warner-Bratzler cell (1.016 mm thick) with a 60° V-shaped blade with a beveled rim and a flat plate with a 2.032 mm gap for blade passage. The blade speed was 240 mm/min. Cylindrical meat samples of 1.27 cm in diameter and 2.5 cm long were examined with fibers perpendicular to the cutting blade.

2.7. Statistical Analysis. Physicochemical measurements were performed in triplicate and five repetitions were performed to determine the mechanical properties of the meat. Statistical analysis was conducted on a random design using SPSS 10.0 for Windows. A one-way analysis of variance (ANOVA) was used to determine the least significant differences to a level of confidence of 95% between samples before and after high-pressure treatment

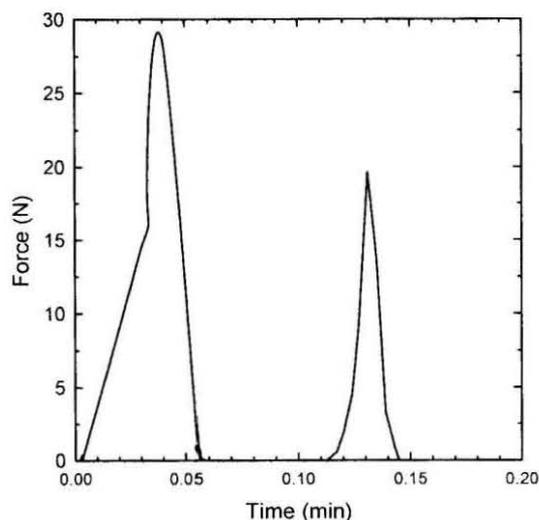


Figure 2. Typical TPA signal for beef meat.

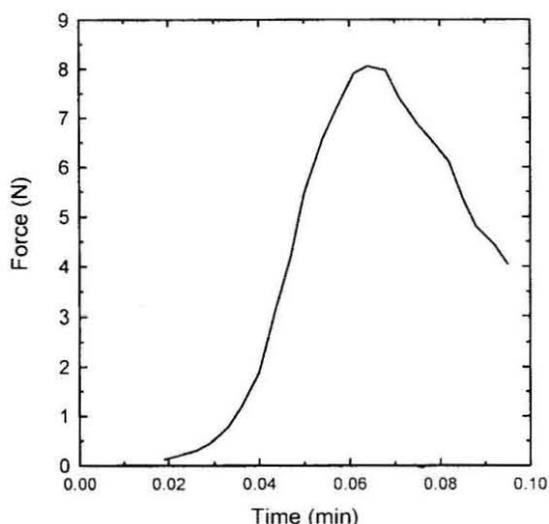


Figure 3. Typical signal for tenderness determination with the Warner-Bratzler cell.

and for measurements for a given treatment. Tables and figures show the standard deviation.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Physicochemical Tests. **3.1.1. pH.** Table 1 shows the variation of pH with storage time at 4 °C for HHP-treated meat and the corresponding control. Initially ($t = 0$), the pH of the pressurized meat increased compared to the control, regardless of the applied pressures. The pH increased by 0.13 to 0.29 in the range of 310 to 345 MPa. This small but significant increase can be attributed to burying of the acidic groups of the amino acids as proteins unfolded during the pressure treatment. This behavior has been reported for postrigor *Longissimus dorsi* beef treated at 20 °C in the range of 200 to 800 MPa.²⁵ However, the change in

Table 1. Effect of HHP on pH of Beef Meat at Different Storage Times at 4 °C^{a,b}

time (days)	control	310 MPa	324 MPa	345 MPa
0	5.40 ± 0.03 ^a	5.60 ± 0.25 ^{a,b}	5.60 ± 0.08 ^b	5.44 ± 0.10 ^b
7	5.43 ± 0.52 ^a	5.59 ± 0.20 ^a	5.50 ± 0.36 ^a	5.53 ± 0.45 ^a
14	5.20 ± 0.49 ^a	5.46 ± 0.23 ^a	5.18 ± 0.10 ^a	5.42 ± 0.57 ^a
21	5.23 ± 0.28 ^a	5.19 ± 0.10 ^a	5.10 ± 0.22 ^a	5.18 ± 0.29 ^a
28	5.69 ± 0.54 ^a	5.27 ± 0.18 ^a	5.76 ± 0.69 ^a	5.80 ± 0.60 ^a
35	5.80 ± 0.60 ^{a,b}	5.62 ± 0.45 ^{a,b}	6.09 ± 0.06 ^b	5.19 ± 0.11 ^a
42	5.41 ± 0.33 ^a	5.74 ± 0.34 ^a	5.34 ± 0.14 ^a	5.83 ± 0.49 ^a

^a Different letters mean significant differences ($p < 0.05$) between samples. ^b Different letters mean significant differences ($p < 0.05$) between samples.

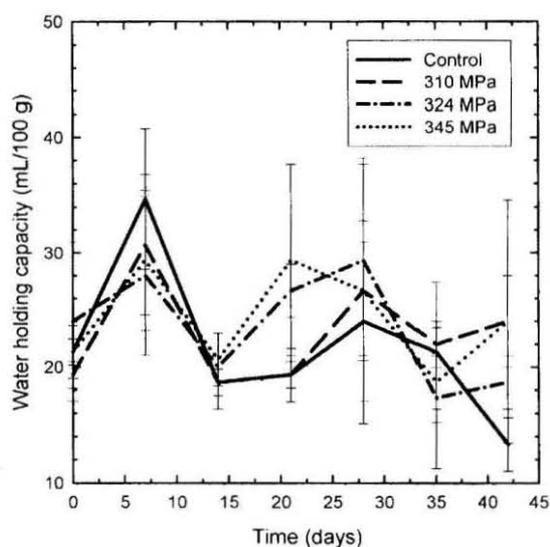


Figure 4. Variation with storage time at 4 °C of WHC for pressurized and unpressurized beef meat.

pH with pressure does not follow a defined pattern. The decrease in pH during the first 14 to 21 days can be attributed to the activity of lactic bacteria, whereas the subsequent increase in pH can be explained by the formation of amine products from protein degradation as confirmed by the increase in TVB (Figure 5). In general, the pH value for cuts treated at the different pressures were within the limits of normal quality meat.

3.1.2. WHC. As shown in Figure 4, the water-holding capacity did not exhibit significant differences ($p > 0.05$) between the pressurized and unpressurized meat. However, large variations were observed during storage at 4 °C, complicating the determination of the best treatment conditions. No data on the effect of HHP on WHC in beef meat have been reported. However, the drip loss (i.e., the exudate forced out by centrifugation of thawed samples) of raw, frozen, pressurized-frozen, and pressurized-unfrozen porcine *Longissimus dorsi* and bovine semitendinosus muscles has been reported.²⁶ The drip loss was not significantly different between raw, frozen and thawed and pressurized-unfrozen meat but differed in comparison to pressurized-frozen and thawed meat. Meat samples treated at 345 MPa had the greatest WHC in the third week (21 days) of storage. The control meat and meats treated at 324 and 345 MPa exhibited the same

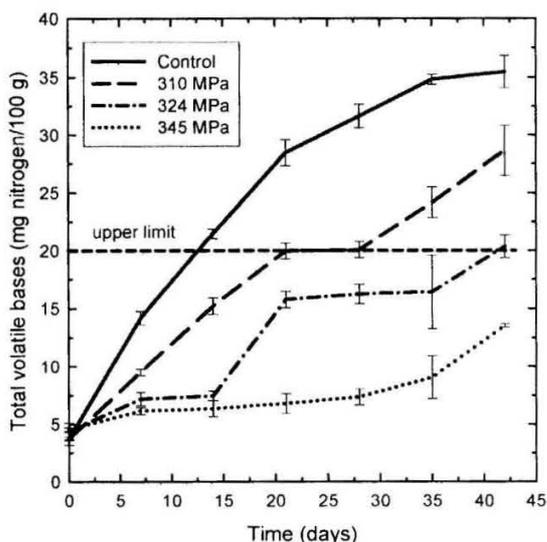


Figure 5. Variation with storage time at 4 °C of TVB for pressurized and unpressurized beef meat.

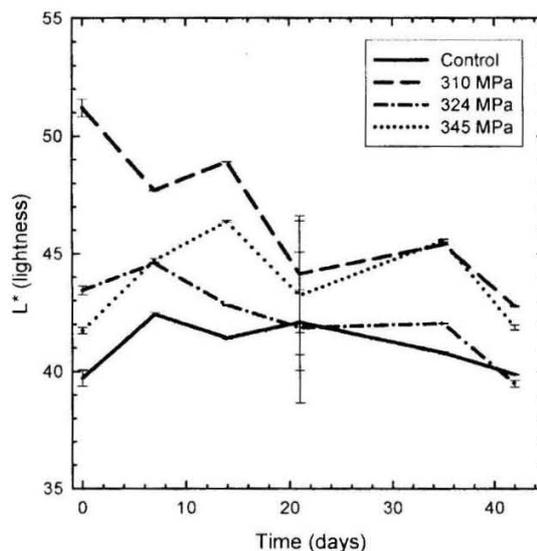


Figure 7. Variation with storage time at 4 °C of L* (lightness) for pressurized and unpressurized beef meat.

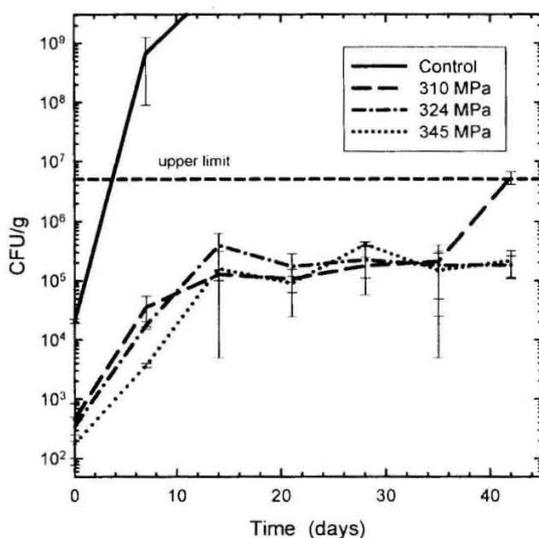


Figure 6. Variation with storage time at 4 °C of mesophilic aerobic microorganisms for pressurized and unpressurized beef meat.

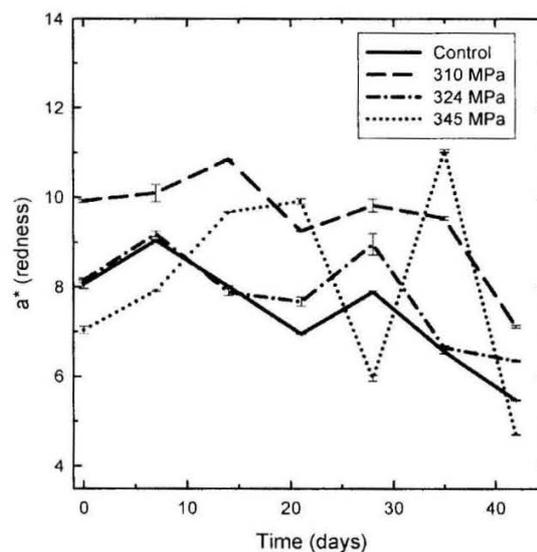


Figure 8. Variation with storage time at 4 °C of a* (intensity of red) for pressurized and unpressurized beef meat.

trend. The WHC is an important characteristic as it affects meat juiciness and therefore influences consumer acceptance. Consequently, it is important to verify whether high-pressure treatment affects the water retention. The WHC is related to the hydrophilic nature of proteins; more interaction with water is expected when hydrophilic sites are in contact with the solvent. Our meat samples were not frozen, so thawing had no influence on our experiments.

Pressures higher than 345 MPa resulted not only in undesirable color change but also in liquid exudation, as shown in Figure 1 (c) and (d). These results indicate that the hydrophilic sites of meat proteins were no longer interacting with the liquid

medium; therefore, the hydrophobic sites were exposed probably due to protein denaturation. Figure 4 shows that the hydrophilic–hydrophobic balance of meat samples changed during storage but was not significantly affected by pressure within the range tested. The decrease in WHC during cold storage after high-pressure treatment was associated with a decrease in pH shown over the same periods of time (Table 1). Both the WHC and pH were correlated with microbial and enzyme activity. Ammonia production and amino sugar complex formation increase the pH and WHC;²⁷ therefore, increases in WHC can be attributed to the production of these compounds, which can be confirmed by increased TVB.

Table 2. Warner-Bratzler Tenderness and Mechanical Properties at Different Pressures and Storage Times

sample	Warner-Bratzler		TPA	
	tenderness (N)	hardness (N)	peak force 2nd cycle (N)	chewing work (J)
0 Days				
control	12.9 ± 0.380 ^b	20.6 ± 21.0 ^a	4.34 ± 2.80 ^a	0.52 ± 0.36 ^a
310 MPa	6.88 ± 0.860 ^a	16.7 ± 5.04 ^a	12.0 ± 4.04 ^a	0.27 ± 0.13 ^a
324 MPa	8.97 ± 1.87 ^a	33.8 ± 22.0 ^a	22.7 ± 15.8 ^{a,b}	0.47 ± 0.33 ^a
345 MPa	11.9 ± 1.36 ^b	48.9 ± 23.1 ^a	33.7 ± 14.6 ^a	0.94 ± 0.61 ^a
7 Days				
control	15.0 ± 2.93 ^b	28.2 ± 12.2 ^a	12.7 ± 9.16 ^a	0.44 ± 0.23 ^{a,b}
310 MPa	10.8 ± 2.34 ^{a,b}	36.3 ± 10.6 ^{a,b}	27.0 ± 8.69 ^{a,b}	0.47 ± 0.16 ^{a,b}
324 MPa	9.23 ± 2.79 ^a	29.1 ± 11.6 ^a	22.0 ± 7.94 ^{a,b}	0.38 ± 0.15 ^a
345 MPa	9.88 ± 1.97 ^a	51.0 ± 11.8 ^b	33.6 ± 14.3 ^b	0.73 ± 0.19 ^b
14 Days				
control	8.23 ± 1.31 ^a	41.3 ± 5.50 ^b	16.3 ± 14.5 ^a	0.76 ± 0.08 ^b
310 MPa	13.6 ± 4.11 ^{a,b}	9.30 ± 3.83 ^a	7.32 ± 3.05 ^a	0.12 ± 0.06 ^a
324 MPa	14.1 ± 4.10 ^{a,b}	41.4 ± 9.54 ^b	29.7 ± 6.94 ^b	0.70 ± 0.20 ^b
345 MPa	15.8 ± 1.96 ^b	27.8 ± 13.80 ^b	15.7 ± 6.94 ^{a,b}	0.36 ± 0.21 ^a
21 Days				
control	18.6 ± 3.80 ^a	25.7 ± 4.12 ^a	20.1 ± 2.62 ^a	0.38 ± 0.07 ^a
310 MPa	13.1 ± 2.45 ^a	28.9 ± 14.1 ^a	14.7 ± 4.76 ^a	0.25 ± 0.13 ^a
324 MPa	17.7 ± 2.09 ^a	22.5 ± 13.0 ^a	17.6 ± 10.7 ^a	0.30 ± 0.17 ^a
345 MPa	16.5 ± 4.12 ^a	37.5 ± 13.7 ^a	28.1 ± 9.46 ^a	0.76 ± 0.63 ^a
28 Days				
control	19.1 ± 7.19 ^b	22.1 ± 12.3 ^a	16.0 ± 8.50 ^a	0.33 ± 0.17 ^a
310 MPa	13.9 ± 2.70 ^{a,b}	26.7 ± 14.5 ^a	20.3 ± 10.6 ^a	0.36 ± 0.22 ^a
324 MPa	13.8 ± 1.76 ^{a,b}	34.2 ± 15.6 ^a	17.2 ± 10.6 ^a	0.51 ± 0.25 ^a
345 MPa	11.3 ± 1.34 ^a	32.8 ± 10.7 ^a	18.1 ± 16.7 ^a	0.44 ± 0.16 ^a
35 Days				
control	14.4 ± 1.23 ^a	29.7 ± 7.95 ^a	21.6 ± 5.77 ^a	0.44 ± 0.10 ^a
310 MPa	15.6 ± 1.33 ^a	41.7 ± 15.9 ^a	30.0 ± 11.6 ^a	0.65 ± 0.30 ^a
324 MPa	16.9 ± 3.92 ^a	37.1 ± 11.9 ^a	29.6 ± 10.9 ^a	0.55 ± 0.27 ^a
345 MPa	12.3 ± 2.39 ^a	37.2 ± 15.2 ^a	24.5 ± 14.7 ^a	0.58 ± 0.28 ^a
42 Days				
control	14.1 ± 4.26 ^{a,b}	30.3 ± 7.97 ^a	22.8 ± 6.58 ^{a,b}	0.38 ± 0.17 ^a
310 MPa	10.2 ± 2.14 ^a	49.0 ± 2.69 ^a	36.4 ± 2.26 ^b	0.74 ± 0.10 ^a
324 MPa	16.4 ± 1.26 ^b	28.2 ± 19.4 ^a	20.2 ± 12.8 ^a	0.41 ± 0.28 ^a
345 MPa	13.0 ± 2.05 ^{a,b}	36.6 ± 20.0 ^a	11.7 ± 0.94 ^a	0.70 ± 0.58 ^a

^a Different letters mean significant difference ($p > 0.05$) between samples. ^b Different letters mean significant difference ($p > 0.05$) between samples.

3.1.3. TVB. Figure 5 shows a continuous increase in TVBs over a period of 42 days for pressurized and unpressurized meats stored at 4 °C. After 12 days, the unpressurized meat samples exceeded the upper limit allowed by the official sanitary standard (i.e., unsuitable for consumption). Meat samples treated at 310 and 324 MPa exceeded this limit after 20 and 42 days, respectively. Therefore, the best treatment was at 345 MPa, because the TVB content of meat samples after 42 days was well below the limit of the sanitary standard and increased at a slower rate than the meat samples that were subjected to the other treatments. The TVB value can be used as a quality indicator for meat. As shown in Figure 5, the continuous increase could indicate greater bacterial populations and activity, which is consistent with the microbial counts shown in Figure 6. The TVB level is associated

with the amino acid decarboxylase activity. The free amino acids and related simple nitrogenous compounds utilized by bacteria during the first day of refrigerated storage and the primary proteins are not attacked until the supply of simpler constituents has been exhausted. Therefore, the TVB continuously increased and the pH increased only after 14 to 21 days, as shown in Table 1.

3.2. Microbiological Analysis. 3.2.1. Plate Count. Unpressurized meat (Figure 6) became unsuitable for consumption after a few days in refrigeration as their CFU/g rapidly exceed the limit of the sanitary standard: 5×10^6 CFU/g = 6.70 log CFU/g. High-pressure treatment was effective in all cases for reducing the number of CFUs/g, even after 42 days of storage. A pressure of 345 MPa low growth during refrigerated storage. Reports on

minced beef meat treated at 400 MPa for 10 min at 12 °C²⁸ showed that the mesophilic aerobic bacteria populations of unpressurized samples increased from 6.53 before storage to 6.87 log CFU/g after storage for 3 days at 4 °C, whereas the bacterial populations of pressurized samples decreased from 3.79 to 3.50 log CFU/g. The same overall trend was observed for Gram-negative and lactic acid bacteria. Nevertheless, the effect of high-pressure treatment during cold storage over a similar period of time as the one reported here was not studied.

3.3. Instrumental Color. Figure 7 shows the change in L^* (lightness) during storage at 4 °C after high-pressure treatment. Initially ($t = 0$), all pressurized meat samples, especially at 345 MPa, exhibited darker colors compared to pressurized meat at 310 and 324 MPa. The observed differences were in some cases not statistically significant ($p > 0.05$). At 20 days of storage, pressurized meats had similar L^* than the controls, but no significant difference was found for the three pressures applied. After 30 days of storage, L^* of the control was lower than that of pressurized meat samples; 310 and 345 MPa had higher lightness but were not significantly different from each other. At 42 days of storage, only meat samples treated at 310 MPa had slightly higher L^* values than the other pressurized and unpressurized meat. Studies with minced beef meat packed under vacuum exhibited significantly increasing L^* color values when pressures in the range of 250 to 350 MPa were applied for 10 min at 10 °C. However, the meat became pink under these conditions.⁸

Figure 8 shows the change in a^* (redness) with storage time. The red color of the meat is mainly due to the heme-containing protein myoglobin. Although myoglobin is the primary source of meat color, the blood pigment hemoglobin can also be present in meat muscle and can account for 20% or more of the total pigment content.²⁹ Changes in meat color depend largely on the chemical state, rates, and reactivities of the two pigments. In the presence of oxygen, there is a dynamic cycle in which oxymyoglobin, myoglobin and metmyoglobin are constantly being interconverted. The partial pressure of oxygen is important because it determines the stability of the highly resonant structure of the heme pigment and shifts the cycle to one of the three aforementioned states. Even when the partial pressure of oxygen is low, the dynamic cycle exists but is more susceptible to the presence of endogenous and exogenous reducing substances.²⁹ A high a^* value is associated with a high concentration of myoglobin¹⁵ and thus is of better quality and is more accepted by consumers. Initially ($t = 0$) HHP treatment at 310 MPa increased redness over the control. At 30 days, the unpressurized and samples treated at 310 and 324 MPa showed significant differences ($p < 0.05$). In contrast, samples at 345 MPa were significantly different ($p < 0.05$) from the 310, 324 MPa and untreated samples. At 42 days of storage, only the samples treated at 310 MPa had a^* red color values that were slightly higher than the rest of the samples. In general, meat treated at 324 and 345 had the most appealing color characteristics.

3.4. Mechanical Properties. Table 2 shows the tenderness and TPA data for the HHP-treated and unpressurized meat samples. Hardness showed no significant differences ($p > 0.05$) between the unpressurized and pressurized samples. Decreased hardness is related to physical modification of the muscle miofibrils.³⁰ The rest of the texture properties were not, in general, significantly different ($p > 0.05$) between the unpressurized and pressure-treated meat. These properties were stable with low variations over 42 days of storage.

4. CONCLUSIONS

The pressure levels applied to beef meat samples decreased the microorganism population and retarded the formation of volatile compounds responsible for spoilage, leading to a longer shelf life without significant changes in color and mechanical properties. In general, good results were obtained with the pressure levels used considering the initial microbiological spoilage of meat. These findings are encouraging as they show that high-pressure treatment of fresh raw meat has beneficial effects on the preservation of this important and highly perishable food. Pressure treatment allowed meat to be preserved for up to 42 days. High-pressure treatments can be used advantageously in combination with refrigeration to maintain the quality of meat without the addition of chemical preservatives. The treated meat could be used for direct consumption, could be preserved as a raw material over long periods before processing into a particular meat product, or could even be used for exportation.

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*E-mail: tecante@unam.mx.

■ ACKNOWLEDGMENT

We appreciate the financial support of Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal (ICyT-DF) through grant PICS08-42. B. E. Sánchez-Basurto acknowledges CONACyT (Mexico) for her scholarship and Programa de Posgrado en Ingeniería—UNAM for additional financial support. Thanks are also due to María de Jesús Ramírez-Palomares, José E. García-Zahoul and Marcos Baez-Fernández (ULSA) for their assistance with some color measurements.

■ REFERENCES

- (1) Hendrickx, M.; Ludykhuyze, L.; Van den Broeck, I.; Weemaes, C. Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends Food Sci. Technol.* **1998**, *9*, 197.
- (2) San Martín, M. F.; Barbosa-Cánovas, G. V.; Swanson, B. G. Food processing by high hydrostatic pressure. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2002**, *42*, 627.
- (3) Veften Olsen, N.; Grunert, K. G.; Sonne, A.-M. Consumer acceptance of high-pressure processing and pulsed-electric field: a review. *Trends Food Sci. Technol.* **2010**, *21*, 464.
- (4) Torres, J. A.; Velazquez, G. Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods. *J. Food Eng.* **2005**, *67*, 95.
- (5) Rastogi, N. K.; Raghavaro, K. S. M. S.; Balasubramaniam, B. S.; Niranjana, K.; Knorr, D. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2007**, *47*, 69.
- (6) Balasubramaniam, V. M.; Farkas, D.; Turek, E. J. Preserving foods through high-pressure processing. *Food Technol.* **2008**, *62*, 32.
- (7) NC Hyperbaric. HHP: Applications. 2011. <http://www.nchyperbaric.com> (accessed October 20, 2011).
- (8) Cheftel, J. C.; Culioli, J. Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Sci.* **1997**, *46*, 211.
- (9) Patterson, M. F. Microbiology of pressure-treated foods. *J. Appl. Microbiol.* **2005**, *98*, 1400.
- (10) Marcos, B.; Aymerich, T.; Garriga, M. Evaluation of high pressure processing as an additional hurdle to control *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in low-acid fermented sausages. *J. Food Sci.* **2005**, *70*, M339.
- (11) Han, Y.; Yu, X.; Jiang, Y.; Zhou, G.; Sun, X.; Xu, B. Inactivation of food spoilage bacteria by high pressure processing: Evaluation with

ANEXO C

conventional media and PCR-DGGE analysis. *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 1719.

(12) Fernández, P. P.; Sanz, P. D.; Molina-García, A. D.; Otero, L.; Guignon, B.; Vaudagna, S. R. Conventional freezing plus high pressure-low temperature treatment: Physical properties, microbial quality and storage stability of beef meat. *Meat Sci.* **2007**, *77*, 616.

(13) Ma, H. J.; Ledward, D. A.; Zamri, A. I.; Frazier, R. A.; Zhou, G. H. Effects of high pressure/thermal treatment on lipid oxidation in beef and chicken muscle. *Food Chem.* **2007**, *104*, 1575.

(14) Serra, X.; Grèbol, N.; Guàrdia, M. D.; Guerrero, L.; Gou, P.; Masoliver, P.; Gassiot, M.; Sárraga, C.; Monfort, J. M.; Arnau, J. High pressure applied to frozen ham at different process stages. 2. Effect on the sensory attributes and on the color characteristics of dry-cured ham. *Meat Sci.* **2007**, *75*, 21.

(15) Wackerbarth, H.; Kuhlmann, U.; Tintchev, F.; Heinz, V.; Hildebrandt, P. Structural changes of myoglobin in pressure-treated pork meat probed by resonance Raman spectroscopy. *Food Chem.* **2009**, *115*, 1194.

(16) Sikes, A.; Tornberg, E.; Tume, R. A proposed mechanism of tenderizing post-rigor beef using high pressure-heat treatment. *Meat Sci.* **2010**, *84*, 390.

(17) Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA1-1993. Bienes y Servicios. Productos de la carne. Carne molida y carne molida moldeada. Envasadas. Especificaciones Sanitarias. 1994.

(18) Cunniff, P. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 16th ed.; AOAC International: USA, 1995; Vols. I and II.

(19) Hamm, R. *Water-holding capacity of meat*. In Meat. Cole, B. J. A., Lawrie, R. A., Eds.; Butterworth Publications: London, UK, 1975; Vol. 16, p 321.

(20) Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. 1995.

(21) Veland, J. O.; Torrissen, O. J. The texture of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle as measured instrumentally using TPA and Warner–Bratzler shear test. *J. Sci. Food Agric.* **1999**, *79*, 1737.

(22) Thu, T. N. D. Meat quality: Understanding of meat tenderness and influence of fat content on meat flavor. *Sci. Technol. Develop.* **2006**, *9*, 65.

(23) Miller, M. F.; Hoover, L. C.; Cook, K. D.; Guerra, A. L.; Huffman, K. L.; Tinney, K. S.; Ramsey, C. B.; Brittin, H. C.; Huffman, L. M. Consumer acceptability of beef steak tenderness in the home and restaurant. *J. Food Sci.* **1995**, *60*, 963.

(24) Kerth, C. R.; Blair-Kerth, L. K.; Jones, W. R. Warner-Bratzler shear force repeatability in beef *Longissimus* steaks cooked with a convection oven, broiler, or clam-shell grill. *J. Food Sci.* **2003**, *68*, 668.

(25) Ma, H. Y.; Ledward, D. L. High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. *Meat Sci.* **2004**, *68*, 347.

(26) Fernández-Martín, F.; Otero, L.; Solas, M. T.; Sanz, P. D. Protein denaturation and structural damage during high-pressure-shift freezing of porcine and bovine muscle. *J. Food Sci.* **2000**, *65*, 1002.

(27) Jay, J. M.; Shelef, L. A. Microbial modifications in raw and processed meats and poultry at low temperatures. *Food Technol.* **1978**, *32*, 186.

(28) Rivas-Cañedo, A.; Fernández-García, E.; Nuñez, M. Volatile compounds in fresh meats subjected to high pressure processing: Effect of packaging material. *Meat Sci.* **2009**, *81*, 321.

(29) Fox, J. B. The chemistry of meat pigments. *J. Agric. Food Chem.* **1966**, *14*, 207.

(30) Jung, S.; Ghoul, M.; de Lamballerie-Anton, M. Modifications of ultrastructure and myofibrillar proteins of *post-rigor* beef treated by high pressure. *Lebensm.-Wiss. Technol. (1968-2004)* **2000**, *33*, 313.