



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**Efecto de la aplicación de lactatos sobre algunos parámetros de
calidad de la carne de res**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

JORELY PALMA CLEMENTE

ASERORA: DRA. ADRIANA LLORENTE BOUSQUETS

COASESOR: M. EN C. JONATHAN CORIA HERNÁNDEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO. 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

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

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

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

Efecto de la aplicación de lactatos sobre algunos parámetros de calidad de la carne de res.

Que presenta la pasante: **Jorely Palma Clemente**
Con número de cuenta: **413019664** para obtener el Título de la carrera: **Ingeniería en Alimentos**

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 17 de Agosto de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Adriana Llorente Bousquets	
VOCAL	M. en C. María Guadalupe Amaya León	
SECRETARIO	M. en C. Ana María Soto Bautista	
1er. SUPLENTE	Dr. Enrique Fuentes Prado	
2do. SUPLENTE	Dra. María Elena Pahua Ramos	

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

LMCF/cga*

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, gracias por permitirme llegar a realizar este sueño y por bendecirme con la familia que tengo.

A la máxima casa de estudios la **Universidad Nacional Autónoma de México**, por permitirme ser parte de esta gran familia estudiantil, por darme la oportunidad de formarme profesional y humanamente.

A la **Dra. Adriana Llorente Bousquets**, por brindarme su apoyo incondicional en la realización de este trabajo, por guiarme e impulsarme a ser mejor persona, y por motivarme a cerrar este ciclo tan importante en mi vida.

A la profesora **Ma. Guadalupe López Franco** y al **M. en C. Jonathan Coria Hernández**, por ser parte de mi aprendizaje durante la realización de este proyecto.

A mis sinodales **Ma. Guadalupe Amaya León**, **Ana María Soto Bautista**, **Enrique Fuentes Prado** y **Ma. Elena Pahua Ramos** por dedicarme su tiempo y compartir sus conocimientos para la revisión de este trabajo.

Esta tesis forma parte de los proyectos del **Taller Multidisciplinario de Ingeniería en Alimentos: Procesos Tecnológicos de Productos Cárnicos**. Se llevó a cabo en el **Laboratorio 7 de Bioconservación en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán**.

Se agradece al Proyecto **DGAPA-PAPIIT IT201917 “Estudio *in vitro* de nuevos probióticos para nutrición animal”** por la beca de Titulación otorgada y al Proyecto **PIAPI 1635 “Procesos Tecnológicos de productos cárnicos”** por todos los recursos otorgados para la realización de este trabajo.

DEDICATORIAS

A mi padre **Julián Palma**, por todos los sacrificios que has hecho por darme una profesión, con todo mi amor para ti, esto es solo un pequeño reflejo de todos tus esfuerzos, gracias por tanto papá, te amo.

A mi abuelito **Guillermo Palma**, desde el cielo sé que aplaudes este logro, nuestro logro, gracias por inculcarme tantos valores, por tus consejos y todo el apoyo que me brindaste, por haberme cuidado desde que era una bebé, hasta el cielo con todo mi amor PAPÁ.

A mi madre **Isis Clemente**, por darme la vida y por ser mi amiga incondicional, por escucharme y alentarme a ser cada vez mejor.

A mi abuelita **Juana Ozuna**, porque eres la mujer que más amo, no me alcanzará la vida para pagarte todo lo que has hecho por mí, eres mi Guerrera.

A mis padrinos **Fermina Palma** y **Apolinar Rodríguez**, por su apoyo incondicional, porque nunca me dejaron sola en esta etapa tan importante en mi vida, por sus consejos y el cariño que me han brindado.

A mis hermanos **Marivit, Héctor, Vivian, Julián, Jorge** y a mi primita **Mariangel** por ser mi motivo para salir adelante y demostrarles que los sueños son difíciles de alcanzar pero no son imposibles, cuando se quiere se puede.

A mis amigas **Anel** y **Leslie**, por brindarme su amistad, por compartir conmigo momentos de risas, tristeza y alegría, por apoyarme durante la carrera y por no dejarme vencer fácilmente, siempre estaré para ustedes, gracias.

A **Hugo Castillo**, sabes que eres una persona especial en mi vida, eres más que un amigo, gracias por acompañarme en este camino, por cuidarme y protegerme y no dejarme caer, eres esa persona con la cual quiero compartir mi vida, te amo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	i
ABREVIATURAS	iv
RESUMEN	v
INTRODUCCIÓN	vi
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO.....	vii
1.1 La carne.....	1
1.1.1 Composición química.....	2
1.1.2 Composición muscular.....	5
1.2 Factores extrínsecos que afectan la calidad de la carne.....	7
1.2.1 Alimentación.....	7
1.2.2 Transporte.....	7
1.2.3 Estrés	8
1.2.3.1 Efectos del estrés y pH en la calidad de la carne	8
1.2.3.1.1 Carne oscura, firme y seca (DFD por sus siglas en inglés)	9
1.2.3.1.2 Carne pálida, suave y exudativa (PSE por sus siglas en inglés)	9
1.3 Factores intrínsecos que afectan la calidad de la carne	10
1.3.1 Procesos bioquímicos en la transformación de músculo en carne	10
1.3.1.1 Glucólisis	11
1.3.2 pH	12
1.4 Color de la carne	13
1.4.1 Mioglobina	13
1.4.1.1 Estados químicos de la mioglobina	14
1.4.2 Espectrofotometría de reflectancia.....	15
1.5 Microbiota de origen de la carne	18
1.5.1 Bacterias ácido lácticas (BAL)	18
1.6 Bacterias alterantes de la carne	19
1.6.1 Bacterias mesófilas aerobias.....	20
1.6.2 Coliformes totales.....	20
1.7 Métodos de conservación de la carne	21
1.7.1 Teoría de obstáculos de Leistner.....	21
1.7.2 Refrigeración	22

1.7.3 Envasado al vacío	22
1.7.4 Uso de conservadores	23
1.8 Bioconservación como estrategia para prolongar la vida útil de la carne	23
1.8.1 Uso de sales de ácidos orgánicos	23
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	26
2.1 Justificación	27
2.2 Objetivos	28
2.3 Cuadro metodológico	29
2.4 Materiales y métodos	30
2.4.1 Evaluación de actividad (a_w).....	30
2.4.2 Evaluación de pH de la carne.....	31
2.4.3 Evaluación de los parámetros de perfil de color	32
2.4.4 Evaluación de las bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales.....	33
2.4.4.1 Preparación de agua peptonada.....	33
2.4.4.2 Medios de cultivo.....	34
2.4.4.2.1 Preparación de agar tripton extracto de levadura para la determinación de cuenta estándar	34
2.4.4.2.2 Preparación de agar bilis y rojo violeta.....	35
2.4.4.3 Esterilización del material	35
2.4.4.4 Preparación de placas	35
2.4.4.5 Preparación de la dilución primaria.....	36
2.4.4.6 Preparación de diluciones decimales	37
2.4.4.7 Sembrado en superficie.....	37
2.4.4.8 Conteo de colonias	38
2.4.5 Tinción de Gram.....	39
2.4.5.1 Microscopía óptica	40
2.5 Preparación de lotes experimentales	41
CAPÍTULO 3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	42
3.1 Actividad de agua (a_w).....	43
3.2 pH	44
3.3 Color	46
3.3.1 Parámetro L^*	47
3.3.2 Parámetro a^*	48
3.3.3 Parámetro b^*	49

3.3.4 Parámetro ΔE^*	50
3.3.5 Reflectancia.....	52
3.4 Mesófilos aerobios y coliformes totales	54
3.4.1 Tinción de Gram	59
CONCLUSIONES	63
BIBLIOGRAFÍA	64

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición nutricional de las carnes por 100 g	1
Cuadro 2. Composición química aproximada de la carne	2
Cuadro 3. Principales géneros bacterianos de los alimentos	19
Cuadro 4. Valores aproximados de pH para el crecimiento de microorganismos en alimentos	24
Cuadro 5. Caracterización de la materia prima	30
Cuadro 6. Valores promedios de actividad de agua correspondiente a cada uno de los tratamientos	43
Cuadro 7. Valores promedios de pH correspondiente a cada uno de los tratamientos	45
Cuadro 8. Valores promedios de L*, a* y b* correspondiente a cada uno de los tratamientos	47
Cuadro 9. Valor estimado de la cuenta en placa de mesófilos aerobios en materia prima (ensayo por duplicado)	55
Cuadro 10. Valores de la cuenta en placa de coliformes totales en materia prima (ensayo por duplicado)	55
Cuadro 11. UFC/g de la cuenta en placa de bacterias mesófilas aerobias de los diferentes tratamientos (ensayo por duplicado)	56
Cuadro 12. UFC/g de la cuenta en placa de coliformes totales de los diferentes tratamientos (ensayo por duplicado)	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proteínas miofibrilares (Badui, 2006)	4
Figura 2. Estructura muscular (Judge, 1989)	6
Figura 3. Piruvato y lactato (Stryer, 1995)	12
Figura 4. Estructura de la mioglobina (Horton, 2008)	13
Figura 5. Estados químicos de la mioglobina (Hunt et al., 2012)	14
Figura 6. Modelo de color CIELab (Hunt et al., 2012)	16
Figura 7. Curva espectral (Hunt et al., 2012)	17
Figura 8. Cuadro metodológico	29

Figura 9. Pa_wkit.....	31
Figura 10. Potenciómetro Orion Five-Star.....	32
Figura 11. Colorímetro Konica Minolta CM-600d.....	33
Figura 12. Frasco Schott	34
Figura 13. Placas de agar bilis rojo violeta y extracto de levadura	36
Figura 14. Campana de flujo laminar	36
Figura 15. Serie de diluciones.....	37
Figura 16. Siembra en placa en superficie	37
Figura 17. Contador de colonias	38
Figura 18. Kit de tinción de Gram	40
Figura 19. Selección de colonias para tinción de Gram	40
Figura 20. Microscopio óptico	41
Figura 21. Envasado al vacío.....	41
Figura 22. Gráfica de caja de actividad de agua de muestra control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasada al vacío y almacenada en refrigeración	44
Figura 23. Gráfica de caja de pH de muestra control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasada al vacío y almacenada en refrigeración.....	46
Figura 24. Gráfica de caja de luminosidad (L[*]) de carne control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración	48
Figura 25. Gráfica de caja de parámetro a[*] de la muestra control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración	49
Figura 26. Gráfica de caja de parámetro b[*] de la muestra control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración	50
Figura 27. Imágenes del cambio de color en la carne de res con y sin lactato, envasada al vacío y almacenada en refrigeración a 4°C.....	51
Figura 28. Gráfica de caja de cambio de color de la muestra control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración a 4°C.....	51
Figura 29. Porcentaje de reflectancia de muestra control, lactato de potasio y lactato de calcio envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración al día inicial.....	52
Figura 30. Porcentaje de reflectancia de muestra control, lactato de potasio y lactato de calcio envasadas al vacío y almacenadas durante una semana en refrigeración.....	53

Figura 31. Porcentaje de reflectancia de muestra control, lactato de potasio y lactato de calcio envasadas al vacío y almacenadas durante dos semana en refrigeración	54
Figura 32. Conteo de las colonias de bacterias mesófilas aerobias en la muestra control, muestra con lactato de potasio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración.....	58
Figura 33. Conteo de las colonias de coliformes totales en la muestra control, muestra con lactato de potasio y con lactato de calcio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración	59
Figura 34. Colonia y morfología de bacterias mesófilas aerobias presentes en materia prima	60
Figura 35. Colonia y morfología de bacterias mesófilas aerobias presentes en la muestra control	60
Figura 36. Colonia y morfología de coliformes presentes en la muestra control	61
Figura 37. Colonia y morfología de bacterias mesófilas aerobias presentes en la muestra con lactato de potasio	61
Figura 38. Colonia y Morfología de bacterias mesófilas aerobias presentes en la muestra con lactato de calcio	62
Figura 39. Placas de agar bilis rojo violeta y agar triptona extracto de levadura.....	62

ABREVIATURAS

a_w : Actividad de agua

BAL: Bacterias Ácido Lácticas

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

a^* : Coordenada de sistema CIELab [rojo (+) a verde (-)]

b^* : Coordenada de sistema CIELab [amarillo (+) a azul (-)]

L^* : Luminosidad [0 (negro) a 100 (blanco)]

ΔE^* : Diferencia colorimétrica total

OMb: Oximioglobina

MMb: Metamioglobina

DMb: Desoximioglobina

COMb: Carboximioglobina

nm: Nanómetros

FDA: Administración de alimentos y medicamentos (por sus siglas en inglés *Food and Drug Administration*)

R: coeficiente de reflectancia.

I_r : Índice de luz reflejada

I_i : Índice de luz incidente

RESUMEN

El consumidor busca la disponibilidad de alimentos seguros, con la menor cantidad de aditivos químicos, que sean sensorialmente aceptables, con un valor nutricional elevado. La carne es un alimento altamente perecedero y debido a condiciones de manejo inapropiadas puede ser responsable de enfermedades humanas de origen alimentario (ETA), entre las que destacan enfermedades diarreicas. Hoy en día el uso de agentes antimicrobianos, avanza más en su aplicación para la conservación de alimentos, tanto en los países industrializados como en los países en desarrollo, con varios objetivos, por ejemplo, para cada etapa de la cadena de valor de la carne, para disminuir y controlar la presencia de patógenos y de microorganismos de interés sanitario y aumentar su vida de anaquel. Entre las nuevas barreras se encuentra la bioconservación, que puede ser definida como el uso de bacterias lácticas o sus metabolitos, mismos que han sido reconocidos como seguros (GRAS) por el Código Federal de Regulaciones del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (por sus siglas en inglés USDA). Se ha demostrado en diferentes trabajos de investigación que éstos tienen efectos favorables sobre la calidad sanitaria de los alimentos. Algunos metabolitos producidos por las bacterias lácticas incluyen a los ácidos orgánicos y sus sales. En la conservación de la carne y productos cárnicos destaca el uso de lactatos de calcio, sodio y potasio, entre otros. La susceptibilidad de las bacterias y su control, puede incrementarse o mejorarse si se analizan los riesgos sanitarios desde un enfoque de la “Teoría de barreras”, el objetivo de este proyecto fue evaluar el efecto de la aplicación de lactato de potasio y calcio como agentes antimicrobianos en la carne de res envasada al vacío y almacenada en refrigeración sobre indicadores sanitarios y algunas propiedades físicas y fisicoquímicas.

Para ello se elaboraron tres lotes, el lote control (sin sal), lote con lactato de potasio y el lote con lactato de calcio, cada uno fue evaluado al inicio, en la primera y segunda semana de almacenamiento. Los resultados fueron procesados en el programa Minitab 16.0.1, donde se realizó un análisis estadístico ANOVA unidireccional con un nivel de significancia del 5%, para evaluar el efecto que tienen los tratamientos, el vacío y la refrigeración sobre la actividad de agua, pH, color y las cuentas de bacterias mesófilas aerobias, así como de los coliformes totales en la carne de res.

INTRODUCCIÓN

La inocuidad es uno de los cuatro grupos básicos de características que, junto con las nutrimentales, sensoriales y comerciales, componen la calidad total de los alimentos. Un alimento *inocuo* es aquel que no ocasiona un daño o enfermedad a la persona que lo consume (Prändl *et al.*, 1994). La carne durante su obtención, manipulación, transporte, procesamiento y almacenamiento o consumo, y por causas provocadas no deliberadamente, sufre variaciones en sus características sensoriales (color, aroma, textura y sabor), composición química o valor nutritivo, de tal manera que su aceptabilidad para el consumo queda suprimida o sensiblemente disminuida, aunque puede, sin embargo, permanecer inocua (Sanudo, 1986). La vida útil de los productos cárnicos depende de varios factores, particularmente de las cargas bacterianas iniciales, la temperatura de almacenamiento y el ambiente que rodea al producto (Mancini *et al.*, 2005). La carne es un alimento altamente perecedero y debido a condiciones de manejo inapropiadas puede ser responsable de enfermedades humanas de origen alimentario (ETA), entre las que destacan enfermedades diarreicas (Hugas *et al.*, 1998). En años recientes, estudios de vigilancia sanitaria, en términos de patógenos específicos aislados de carne, han identificado nuevos agentes causales tales como *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp y *Yersinia enterocolitica*, como responsables de brotes de ETA (Pearson, 2002). La susceptibilidad de las bacterias y su control, puede incrementarse o mejorarse si se analizan los riesgos sanitarios desde un enfoque de la “Teoría de barreras” la cual establece que dos o más barreras aplicadas en el control sanitario de alimentos, pueden actuar mejor sinérgicamente que cada uno por separado, este ejemplo, aplica al uso de agentes antimicrobianos, entre los que resaltan los ácidos orgánicos y sus sales (Fennema, 2010). El efecto antimicrobiano de los lactatos se atribuye a la habilidad para reducir la actividad de agua y el efecto inhibitorio del ácido láctico sin disociar, que penetra a través de la membrana celular al citoplasma microbiano e inhibe su desarrollo por la acidificación intracelular. La efectividad de los lactatos como antimicrobianos va a depender de la microbiota inicial presente en la carne, el uso de bajas temperaturas y envasado al vacío durante el almacenamiento son factores extrínsecos que pueden inhibir el crecimiento de bacterias mesófilas aerobias y coliformes (Ercolini *et al.*, 2011).

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

1.1 La carne

Carne es la estructura muscular estriada esquelética, acompañada o no de tejido conectivo, hueso y grasa, además de fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos; proveniente de los animales para abasto, que no ha sido sometida a ningún proceso que modifique de modo irreversible sus características sensoriales y fisicoquímicas; se incluyen las refrigeradas o congeladas (NOM-194-SSA1-2004).

El *Codex Alimentarius* define la carne como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano”. La carne se compone de agua, proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos. Desde el punto de vista nutricional, la importancia de la carne deriva de sus proteínas de alta calidad, que contienen todos los aminoácidos esenciales, así como de sus minerales y vitaminas de elevada biodisponibilidad. En el cuadro 1 se presentan la composición química de la carne de algunas especies.

Cuadro 1. Composición nutricional de las carnes por 100 g

Producto	Agua (%)	Proteínas (%)	Grasas (%)	Cenizas (%)	kJ
Carne de res (magra)	75.0	22.3	1.8	1.2	485
Canal de res	54.7	16.5	28.0	0.8	1351
Carne de cerdo (magra)	75.1	22.8	1.2	1.0	469
Canal de cerdo	41.1	11.2	47.0	0.6	1975
Carne de ternera (magra)	76.4	21.3	0.8	1.2	410
Carne de pollo	75.0	22.8	0.9	1.2	439
Carne de venado (ciervo)	75.7	21.4	1.3	1.2	431

Fuente: (FAO, 2007)

1.1.1 Composición química

La composición química (cuadro 2) de la carne varía según la especie, el sexo, el sistema de crianza, la alimentación, la raza y la edad.

Agua: La cantidad de agua en la carne oscila entre el 60% y 80%, está directamente relacionada con la variación de la cantidad de grasa, si una disminuye la otra aumenta y viceversa. Además, tiene relación con la jugosidad y otros atributos sensoriales como la textura, el color o la dureza de la carne.

Proteínas: Son biomoléculas formadas básicamente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Pueden considerarse polímeros formadas por pequeñas moléculas que reciben el nombre de aminoácidos, los cuales están unidos mediante enlaces peptídicos. Las proteínas desempeñan un papel fundamental en los seres vivos y son las biomoléculas más versátiles y más diversas. Realizan una enorme cantidad de funciones biológicas diferentes, entre ellas funciones estructurales, enzimáticas, transportadora (Badui, 2006).

Cuadro 2. Composición química aproximada de la carne

Componentes	%
Agua	75
Proteína	19
Miofibrilares: solubles en sal Miosina, actina, tropomiosina, troponina	11.5
Sarcoplásmicas: solubles en agua Gliceraldehído, aldolasa, mioglobina, hemoglobina	5.5
Tejido conectivo: insolubles Colágeno, elastina, reticulina, mitocondrias	2
Lípidos	2.5
Carbohidratos Glucógenos, glucosa	1.2
Otros: Vitaminas, minerales, nitrógeno orgánico	2.3

Fuente: Badui, 2006

Las propiedades funcionales de las proteínas de la carne desempeñan un papel importante en cuanto a la tecnología de alimentos, tanto en lo referente a los procesos de fabricación como por su incidencia en los atributos de calidad del producto final. Pueden tener la capacidad de hidratación y de retención de agua, de emulsión de grasa, de gelificación, de formación de espumas, de cohesión, de viscosidad, etc. Cabe mencionar que las propiedades funcionales de las proteínas difieren según el origen de la proteína y no se dispone de una proteína que reúna todas las características de funcionalidad.

Proteínas miofibrilares: La proteína total de la carne está compuesta mayoritariamente por proteínas miofibrilares (figura 1), son las principales responsables de la retención del agua y son estables durante las operaciones de reducción de tamaño. Se considera que el 70% del contenido de agua está ubicado en los espacios existentes entre los filamentos gruesos y delgados de la miofibrilla; del resto, el 20% en el sarcoplasma y el 10% en el tejido conjuntivo y espacios extracelulares (Badui, 2006).

- Miosina: Es la más abundante de las proteínas miofibrilares (50% aproximadamente), es una molécula compuesta por dos cadenas pesadas (meromiosina) y cuatro cadenas ligeras, las cuales están formadas por aspartato y glutamato y aminoácidos básicos (histidina, lisina y arginina), se caracteriza por ser una molécula altamente cargada y por poseer una fuerte afinidad por los iones calcio y magnesio. El punto isoeléctrico de la miosina es a un pH de 5.4.
- Actina: La actina representa el 30% del total de la proteína muscular. Es la parte fundamental de los filamentos delgados. Se encuentra en dos formas fisicoquímicas, como monómero en forma libre (G-actina) y como parte de polímeros lineales (F-actina). La G-actina se polimeriza en presencia de ATP y sales para forma F-actina. La F-actina es la que se combina con la miosina para forma la actomiosina en *rigor mortis*. El punto isoeléctrico de la actina es a un pH de 4.7.
- Tropomiosina: Representa entre el 8 y 12% de las proteínas miofibrilares. Tiene estructura fibrilar y forma parte del filamento delgado sobre la actina y en ocasiones se une a ella.
- Troponina: Está presente en bajo porcentaje, es globular y se encuentra en los filamentos delgados a la altura de la unión de la tropomiosina con la actina. Está implicada en

procesos de regulación de la contracción muscular. El punto isoelectrónico de la miosina es a un pH de 5.1.

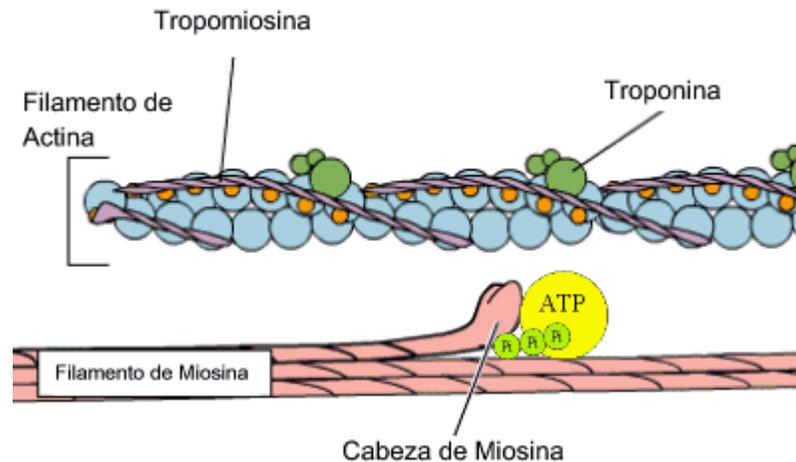


Figura 1. Proteínas miofibrilares (Badui, 2006)

Proteínas sarcoplásmicas: Están en solución en el fluido intracelular, también llamado sarcoplasma, son solubles a baja fuerza iónica, se desnaturalizan por calor y a bajo pH. En estado nativo estas proteínas son altamente solubles, contribuyen mínimamente a la capacidad de retención de agua, la textura y emulsificación. Desde el punto de vista tecnológico la más importante de esta categoría es la mioglobina, la cual se encuentra formada por una globina y una porfirina (grupo *hemo* que lleva un átomo de hierro). El color de la carne depende principalmente del grado de oxidación del hierro de este grupo *hemo* (Badui, 2006).

- **Mioglobina:** Es el principal pigmento de la carne, está formada por una sola cadena polipeptídica de 153 residuos de aminoácidos. Es una hemoproteína muscular, estructuralmente y funcionalmente parecida a la hemoglobina. Es una proteína relativamente pequeña cuya función es la de almacenar y transportar oxígeno.
- **Hemoglobina:** Es un tetrámero de la molécula de mioglobina y llega al músculo a través de los capilares sanguíneos de la carne, por lo que se encuentra en forma residual.

Lípidos: El contenido de grasa en la carne es muy variado debido a la relación grasa-agua. Todo lo que hay en el agua, proteínas, sales, etc. variará si aumenta o disminuye la cantidad de grasa. Esta grasa se va a almacenar en cuatro diferentes depósitos: cavidad corporal, subcutánea, intramuscular e intermuscular. La grasa de estos depósitos va a estar formada principalmente de triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos y colesterol.

Carbohidratos: Su cantidad apenas alcanza el 1.2% en la carne, siendo el glucógeno el más importante. El glucógeno es un polímero de α -D-glucosa con enlaces alfa-1-4 y alfa-1-6. Es la fuente de energía del músculo formando parte del glucógeno consumido en el *rigor mortis*.

Minerales: La carne constituye una fuente importante de minerales esenciales en la dieta por su aporte de hierro, zinc, cobre, yodo, fósforo, además es rica en vitamina B₁₂, los cuales no están fácilmente disponibles en las dietas vegetarianas.

1.1.2 Composición muscular

El músculo constituye un tejido altamente organizado, tanto morfológica, como bioquímicamente, cuya finalidad es producir energía química para convertirla en movimiento mecánico y trabajo. La carne se compone fundamentalmente de músculo, el cual se divide generalmente en tres tipos: muscular, adiposo y conectivo.

- En el tejido muscular se encuentra la mioglobina que es un pigmento que le da el color característico a la carne, en contacto con el aire cambia y esto hace que el corte exterior sea más oscuro que la zona interior. La mayor o menor intensidad en el color rojo no afecta ni al valor nutritivo ni a su digestibilidad.
- El tejido adiposo puede ser visible e invisible (grasa interfascicular). Cuanta más cantidad de grasa tenga una carne, menor contenido de agua tiene. La cantidad de grasa influye en su valor nutritivo y en la digestibilidad.
- El tejido conectivo es el que separa o recubre los grandes músculos y también los tendones. Su cantidad depende del grupo muscular, aumenta con la edad y el ejercicio que haya realizado el animal, haciendo que la carne sea más dura. (Swartz *et al.*, 2009).

Más de 600 músculos esqueléticos distintos, de diferentes tipos y tamaños constituyen entre el 35 y 60% del peso de la canal de los mamíferos por lo que este tipo de músculo es el principal componente de la carne (Judge, 1989).

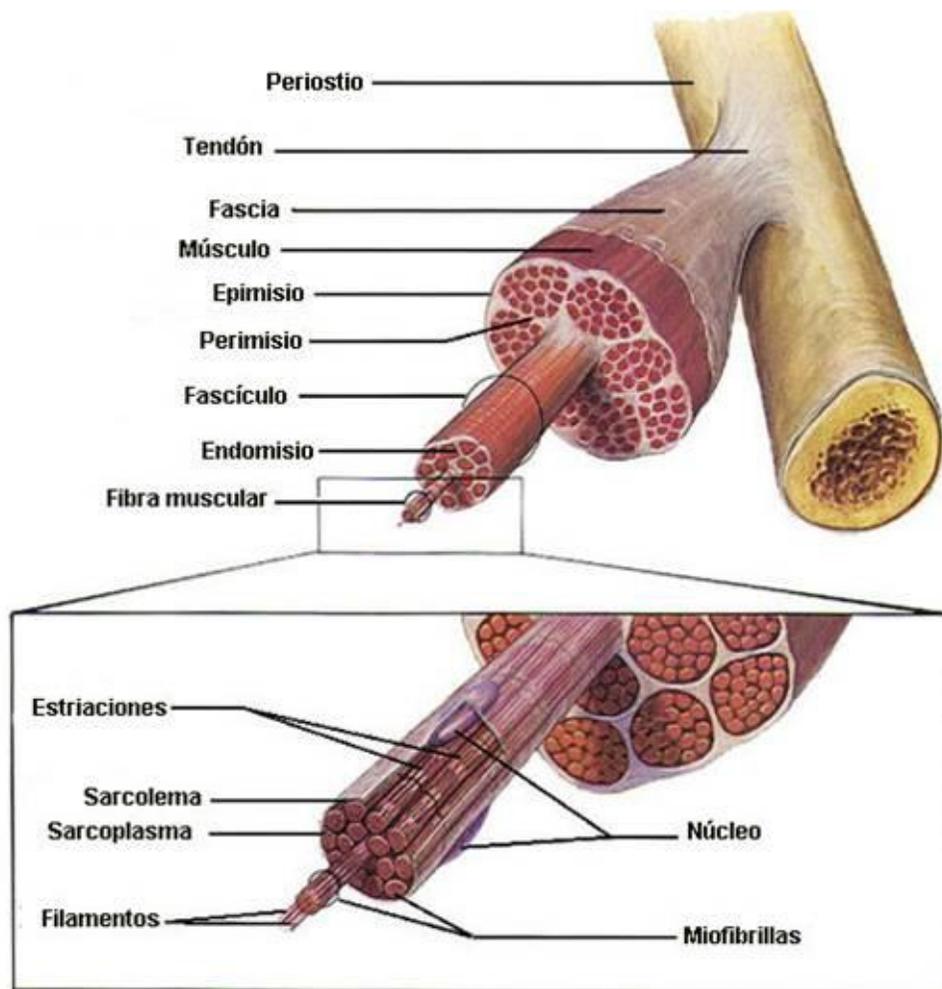


Figura 2. Estructura muscular (Judge, 1989)

Un músculo completo (figura 2) está rodeado generalmente por una lámina de tejido conectivo denominado epimisio, están formados a su vez por la unión de numerosas fibras musculares que están separadas en haces o fascículos, mediante tejido conectivo en forma de septos denominado perimisio. Estos septos parten de la superficie interna del epimisio y contienen los vasos sanguíneos y nervios de mayor tamaño.

La unidad estructural, esencial de los músculos es la fibra muscular, que es una célula muy especializada, es estrecha y larga, puede extenderse de uno a otro extremo del músculo y alcanzar hasta una longitud de 34 cm a pesar de tener un diámetro que oscila entre 10 y 100 μm dentro de individuos de una misma especie y a veces dentro de un mismo músculo. Las fibras musculares constituyen del 75 al 92% del volumen total del músculo; una delicada extensión de tejido conectivo, denominada endomisio, rodea cada fibra individual. La membrana que rodea la fibra muscular se llama sarcolema y está compuesta de material lipídico-proteico.

El sarcolema es una delicada membrana que se encuentra inmediatamente debajo del endomisio; es relativamente elástica y está muy relacionada con la contracción, relajación y estiramiento del músculo. El sarcoplasma es la sustancia intracelular coloidal en la cual están suspendidos todos los orgánulos y está constituido por alrededor de 75 a 85% de agua. Además, contiene lípidos, glucógeno, ribosomas, proteínas, compuestos nitrogenados no proteicos y constituyentes no orgánicos.

Cada fibra muscular contiene de varios centenares a varios millares de miofibrillas. Las miofibrillas son orgánulos únicos del tejido muscular. Son elementos intracelulares, largos, contráctiles, de aproximadamente 1 a 2 μm de espesor, que se extienden a lo largo de la fibra muscular y son las responsables del patrón estriado del músculo esquelético. Las miofibrillas incluyen unidades más finas, los miofilamentos que son de dos tipos: unos gruesos, de 100 angstrom ($1\text{\AA} = 1 \times 10^{-10} \text{m}$) de diámetro y 1,5 μm de largo y, otros delgados, de 50 \AA de diámetro y 2 μm de largo (Judge, 1989).

1.2 Factores extrínsecos que afectan la calidad de la carne

Los factores extrínsecos también conocidos como factores externos, son los que corresponden a aspectos ambientales y de manejo de los animales y de la carne, en cada una de las etapas de la cadena de producción (rastros, plantas faenadoras, transformación, distribución o consumo). Entre los factores extrínsecos más importantes que afectan la calidad de la carne son la alimentación, condiciones de transporte y situaciones de estrés al que fue sometido antes de su sacrificio (Albertí *et al.*, 1995).

1.2.1 Alimentación

Una buena alimentación del animal permite obtener una parte del potencial genético que heredo de sus padres y por otro lado el buen desarrollo de sus procesos reproductivos. Aquellos animales que son alimentados con forrajes verdes, tienden a ingerir mayor cantidad de pigmentos liposolubles, éstos quedan retenidos en la porción de grasa del músculo y en las grasas de depósito y cobertura. Niveles altos de lípidos implican una disminución del agua en la musculatura (Albertí *et al.*, 1995).

1.2.2 Transporte

Durante este momento, los animales son expuestos a factores ambientales estresantes como pueden ser temperaturas extremas, humedad, ruido y movimientos. Un estrés adicional puede ser

causado por el reagrupamiento social llevado a cabo después de la descarga en las plantas de faena. El transporte resulta un evento desconocido y estresante para los animales. Involucra una serie de situaciones de manejo, tales como: carga, confinamiento, descarga y encierre en un nuevo ambiente desconocido que son desagradables y pueden llevar a la falta de confort del animal si no se planean con cuidado y apropiadamente (Grandin, 1993). Cibils *et al.*, (1994) señalan que el transporte por cualquier medio que sea, afecta las condiciones físicas del animal, así como la calidad de la carne y su vida útil, al modificar las condiciones de acidez muscular y la velocidad y duración del *rigor mortis*.

La NOM-051-ZOO-1995. Trato humanitario en la movilización de animales, establece los sistemas de movilización de animales que disminuyan su sufrimiento, evitándoles tensiones o reduciéndolas durante todo el proceso de transporte.

1.2.3 Estrés

De acuerdo con Sanudo (1986) se puede hablar de dos tipos diferentes de estrés: uno es el que puede existir en la granja que es más o menos importante, dependiendo de cuan largo sea y si este momento estresante ocurre próximo al momento del sacrificio, el segundo y probablemente el más importante está relacionado a las condiciones pre-sacrificio (manejo, transporte, alimentación, etc.). Apple *et al.*, (1995) estudiaron el efecto de distintos factores estresantes en ovinos y encontraron que aquellos animales que fueron sometidos a tratamientos estresantes presentaron valores de pH significativamente mayores (> 6) a los que no fueron sometidos a estrés (de 5.72-5.74). Además, la carne de los animales estresados fue significativamente más oscura y más tierna que la de los no estresados.

1.2.3.1 Efectos del estrés y pH en la calidad de la carne

La energía requerida para la actividad muscular en un animal vivo se obtiene de los azúcares (glucógeno) presentes en el músculo. En un animal sano y descansado, el nivel de glucógeno de sus músculos es alto. Una vez sacrificado el animal, este glucógeno se convierte en ácido láctico y el músculo y la canal se vuelven rígidos (*rigor mortis*). Este ácido láctico es necesario para producir carne tierna, de buen sabor, calidad y color. Pero si el animal está estresado antes y durante el sacrificio, se consume todo el glucógeno y se reduce el nivel de ácido láctico que se desarrolla en la carne luego de su sacrificio, lo que puede ocasionar efectos adversos muy graves en la calidad de la carne (Sanudo, 1986).

1.2.3.1.1 Carne oscura, firme y seca (DFD por sus siglas en inglés)

La carne DFD se traduce en que el animal fue sometido a un ayuno adecuado y que las reservas de glucógeno son pocas o casi nula (que hace imposible la fermentación anaeróbica o glucólisis anaeróbica), esta condición también puede presentarse en las canales en las cuales el glucógeno muscular se consumió durante el transporte y manejo en el período anterior al sacrificio. Por consiguiente, se generó poco ácido láctico después de la muerte, entonces el lactato existente es el proveniente de otras fuentes de la célula, pero no por vía glucolítica. Una aplicación de temperaturas de refrigeración después del sacrificio puede controlar la caída del pH para producir carne oscura, firme y seca (por sus siglas en inglés *DFD*). Según algunos autores la carne DFD es la más apetecida por los procesadores de carnes por su alto pH (6.0-7.0), aun así, tiene una menor vida útil por sus niveles de pH altos ya que la carne es más susceptible al ataque microbiano. A este pH las proteínas cárnicas tienen mayor capacidad de retención de agua a causa del pH lejano a sus puntos isoeléctricos (Sanudo, 1986).

1.2.3.1.2 Carne pálida, suave y exudativa (PSE por sus siglas en inglés)

Cuando el pH del músculo desciende rápidamente, es debido a un enfriamiento lento, cantidad producida de lactato por ayuno prolongado antes del sacrificio y estrés en el animal, esto produce una carne pálida, suave y exudativa (PSE) (Sanudo, 1986). El glucógeno se transforma en ácido láctico por medio de reacciones de glicólisis anaeróbica hasta alcanzar pH menores de 5,9. La carne PSE tiene un color pálido y sufre pérdidas por goteo por tener baja capacidad de retención de agua, esto es debido a la rápida caída en el pH y da como resultado bajo rendimiento en los productos cárnicos curados. El utilizar esta carne no es económicamente rentable y se presentan algunos defectos en los productos elaborados con este tipo de carne. Entre ellos tenemos (Keeton, 2001).

- Mayores pérdidas durante la cocción y el curado.
- Mayor proporción de gelatina en los enlatados.
- Excesivas mermas de la carne fresca por exudación.
- Coloraciones variadas e irregulares especialmente blanca en la carne de cerdo, que no es muy agradable sensorialmente.

1.3 Factores intrínsecos que afectan la calidad de la carne

Entre los factores dependientes del animal (internos o intrínsecos) que pueden afectar la calidad de la carne tenemos la raza, sexo y edad del animal. Se puede decir que la intensidad de color rojo es la que tiene mayor variabilidad entre razas, esto debido al metabolismo y tamaño de músculo, según su aptitud de producción y al porcentaje de fibras blancas, rojas e intermedias. El sexo y la edad del animal, también influye sobre el color, la cantidad de pigmentos es mayor en las hembras que en los toros y también aumenta con la edad por la mayor acumulación de mioglobina mientras que la terneza de la carne de toro es generalmente más dura que la de los novillos y ésta más dura que la de las hembras, por lo tanto, a mayor edad menor terneza y jugosidad de la carne (Cañeque *et al.*, 2000).

1.3.1 Procesos bioquímicos en la transformación de músculo en carne

Después de la muerte del animal, una de las modificaciones más características del tejido muscular es la pérdida de sus propiedades elásticas. Las reacciones bioquímicas que entran en juego para explicar la conversión del músculo en carne son muy complejas y para ello se requiere de conocer acerca de las reacciones biológicas enzimáticas como son la proteólisis y lipólisis (Ordóñez *et al.*, 1998).

La proteólisis que se produce durante la maduración afecta principalmente las proteínas miofibrilares. La degradación de las proteínas a péptidos se debe principalmente a la actividad de las enzimas endógenas de la carne. Durante la maduración, las BAL, *Staphylococcus* y *Kocuria* contribuyen a la degradación de las proteínas sarcoplásmicas, pero tienen una baja actividad proteolítica sobre las proteínas miofibrilares, es decir, que pocas veces son precursores de la hidrólisis de los enlaces peptídicos que forman a las proteínas miofibrilares; las BAL gracias al descenso de los valores de pH, contribuyen de manera indirecta a la degradación de las proteínas miofibrilares, mientras que los fenómenos proteolíticos producidos son el resultado de la acción conjunta de las enzimas tisulares (Ordóñez *et al.*, 1998).

Los lípidos son los precursores de numerosos compuestos aromáticos derivados de los fenómenos hidrolíticos y oxidativos producidos durante la maduración. La lipólisis implica la degradación total o parcial de los enlaces éster de los triglicéridos y fosfolípidos. Los lípidos pueden ser hidrolizados por las lipasas microbianas o tisulares, siendo los microorganismos lipolíticos, tales

como *Staphylococcus* y *Kocuria*, los que contribuyen mayoritariamente a la rancidez hidrolítica, los ácidos grasos libres son los precursores de las moléculas aromáticas (Talon *et al.*, 2002).

1.3.1.1 Glucólisis

La glucólisis es la consecuencia de reacciones que convierten la glucosa en un compuesto químico llamado piruvato o ácido pirúvico en condiciones aerobias y en condiciones anaerobias en lactato. En los seres vivos, se realiza la glucólisis aeróbica en el citoplasma de todas las células a partir de moléculas de glucosa obtenidas de la degradación del glucógeno almacenado en el hígado. Las reacciones químicas empiezan con la glucosa y terminan con la formación de piruvato, éste se transforma en oxalato, compuesto químico que se encuentra entre el citoplasma celular y las mitocondrias. Cuando el piruvato se convierte en oxalato, comienza en la mitocondria el ciclo de Krebs o ciclo de los ácidos tricarboxílicos, para la obtención de energía. Dentro de las transformaciones de glucosa a piruvato, hay formación de energía (formación de 2 moléculas de ATP), por lo cual la glucólisis puede continuar hasta la formación de piruvato (Stryer, 1995). La glucólisis tiene dos objetivos importantes:

- Conversión de glucosa a piruvato en presencia de oxígeno sanguíneo.
- Formación de 2 moléculas de ATP para continuar con los procesos de formación de ácido láctico y ciclo de Krebs.

Después de la muerte del animal, cesa el suministro de oxígeno como consecuencia del sangrado, es entonces cuando las reacciones químicas de glucólisis toman otro camino, dando paso a la glucólisis anaerobia en donde se libera simultáneamente fosfato inorgánico que estimula la conversión del glucógeno en ácido láctico, además no se produce piruvato sino lactato (figura 3), el cual queda acumulado en el citoplasma celular, no hay formación de oxalato y por tanto no se presenta el ciclo de Krebs. De esta forma hay una acumulación de lactato en los tejidos biológicos que modifica el pH del citoplasma afectando la función de las enzimas de la glucólisis para la formación de moléculas de ATP (Stryer, 1995).

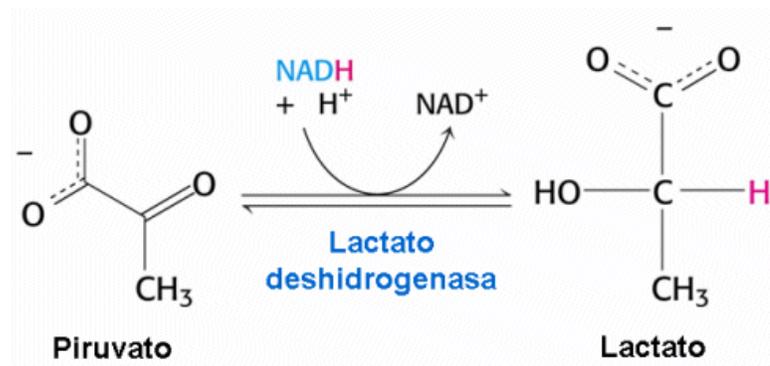


Figura 3. Piruvato y lactato (Stryer, 1995)

1.3.2 pH

El pH es la medida de la actividad del ión hidrógeno de una solución y se define como el logaritmo negativo de la concentración del ión hidrógeno, es un parámetro de la carne de suma importancia que deduce el comportamiento de las propiedades de las proteínas, ya que un incremento considerable en la concentración de iones hidrógeno (H⁺) en el citoplasma resultará en la alteración de la estructura terciaria de las proteínas produciendo rupturas de uniones disulfuro y modificaciones de las interacciones electrostáticas que mantienen la estructura terciaria, influyendo de manera directa o indirecta sobre: el color, el sabor, la ternura, la capacidad de fijación del agua y la conservación. De esta manera el pH influye en la calidad de la carne. El pH del tejido muscular del animal vivo es prácticamente neutro (7.0-7.2), después de la muerte se produce concentración de ácido láctico a partir del glucógeno muscular en función de la glucólisis anaerobia que tiene lugar al detenerse el aporte de oxígeno, mientras haya glucógeno se produce ácido láctico descendiendo el pH hasta que se interrumpen los fenómenos glucolíticos. Por otra parte, la hidrólisis del ATP también ocasiona un incremento de los iones H⁺ en el músculo, contribuyendo al descenso del pH *post mortem* (Hamm, 1977).

El descenso del pH depende del tipo de fibras que predominan en el músculo y de la actividad muscular antes del sacrificio. Así, los músculos con predominio de fibras de contracción rápida (blancas) alcanzan valores finales de 5.5, mientras que en los músculos en donde predominan las fibras de contracción lenta (rojas) el pH no baja de 6.3 (Warris, 1982).

1.4 Color de la carne

El color es uno de los factores importantes para la elección del consumidor, el cual está influenciado por los factores extrínsecos e intrínsecos tales como la genética del animal, el sexo, la edad, la alimentación, la estacionalidad, el estrés *ante mortem*, peso de la canal y algunas condiciones *post mortem* (método de inmovilización y aplicación de estrategias para mejorar la calidad sanitaria), los métodos de envasado, el tiempo y la temperatura de almacenamiento, así como la extensión de la exposición al oxígeno, especialmente después de la muerte, influyen en el color de la carne (Hunt *et al.*, 2012).

1.4.1 Mioglobina

El principal pigmento de la carne, es la mioglobina, la cual cambia de color en función de su estado de oxidación. Es una proteína extremadamente compacta y globular, en la que la mayoría de los aminoácidos hidrofóbicos se encuentran en el interior y muchos de los residuos polares están expuestos en la superficie, interviene en el transporte y fijación del oxígeno y el transporte de electrones. Las mayores concentraciones de mioglobina se encuentran en el músculo esquelético, donde se requieren grandes cantidades de oxígeno para satisfacer la demanda energética en el mecanismo de contracción-relajación. El color de la carne no es fijo y se puede modificar por la interconversión de las tres diferentes formas de la molécula de mioglobina (figura 4). Al realizar un corte transversal a las fibras musculares, la mioglobina interactúa principalmente con los gases de la atmósfera, ya sea oxígeno, monóxido o dióxido de carbono, lo que puede resultar en diferentes porciones de las diferentes especies de mioglobina (Mancini *et al.*, 2005).

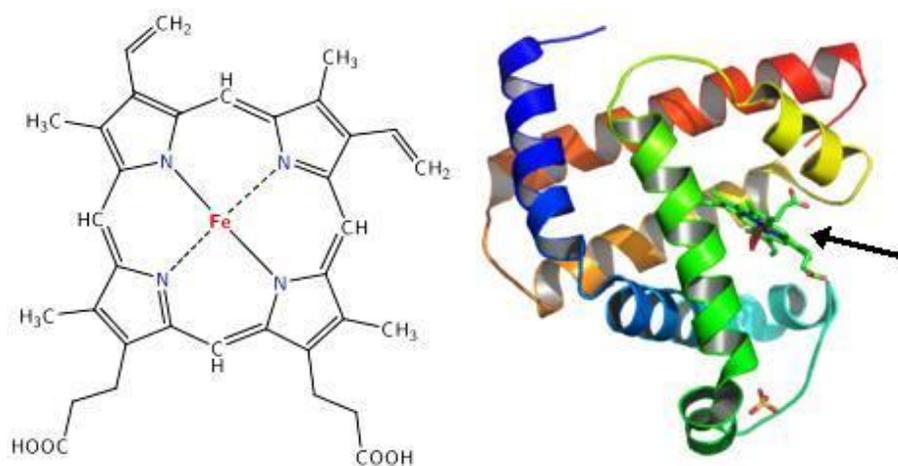


Figura 4. Estructura de la mioglobina (Horton, 2008)

1.4.1.1 Estados químicos de la mioglobina

La mioglobina esta químicamente compuesta por dos partes, una parte proteica (globina) y una no proteica (grupo *hemo*). Es una molécula altamente reactiva, con capacidad de producir compuestos iónicos; el estado de oxidación de la mioglobina es importante para la industria cárnica ya que el color es lo que determina que tan apetecible es para el consumidor, por lo que se han buscado alternativas de envasado para mantener está característica sin afectar la calidad (Mancini *et al.*, 2005). El átomo de hierro del grupo *hemo* de la mioglobina puede encontrarse en forma reducida (Fe^{2+} , ferroso) u oxidada (Fe^{3+} , férrico), se establecen interrelaciones siendo posible la conversión reversible de unas a otras; el pigmento correspondiente a la forma oxidada se denomina metamioglobina y en ella el átomo de hierro no puede combinarse con otras moléculas. Cuando el átomo se encuentra en forma reducida puede reaccionar con una molécula de agua dando lugar a la desoximioglobina, o bien puede compartir electrones con el oxígeno molecular dando lugar a la oximioglobina. Cada una de estas tres formas (figura 5) presenta un espectro de absorción distinto, la desoximioglobina tiene un máximo poco agudo a 550nm, la oximioglobina y la metamioglobina presentan dos máximos, la primera a 542 y 575nm, mientras que la segunda a 505 y 627nm. Esto hace que la desoximioglobina presente una tonalidad rojo púrpura, la oximioglobina un rojo vivo y la metamioglobina un rojo pardo.

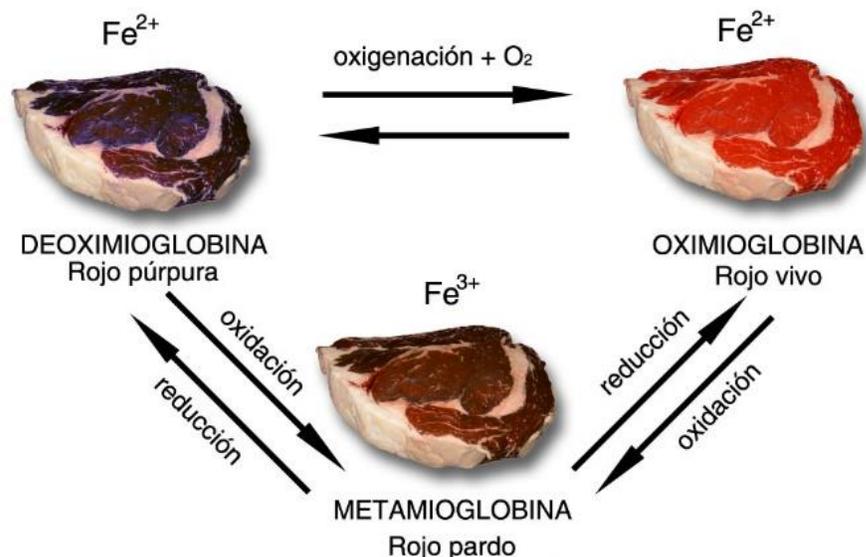


Figura 5. Estados químicos de la mioglobina (Hunt *et al.*, 2012)

Cuando la carne es fresca o recién cortada la proporción de desoximioglobina (DMb Fe^{2+}) es alta y esto confiere a la carne de res un color rojo púrpura, debido a que la mioglobina se encuentra en estado reducido, ya que no hay oxígeno fijado a la molécula. Después de condiciones aerobias, el oxígeno (O_2) se une a la molécula de DMb para producir oximioglobina (OMb Fe^{2+}) y generar un color rojo cereza brillante. Esta reacción ocurre en los primeros 3-5 milímetros de la superficie de la carne, que son los que están en contacto con el oxígeno. Después de una exposición prolongada al medio ambiente, la OMb se oxida a su forma de metamioglobina (MMb Fe^{3+}) generando un color rojo pardo que es poco deseable. Una forma más de la DMb es la carboximioglobina (COMb Fe^{2+}), que se genera en presencia de monóxido de carbono y resulta en una coloración roja, semejante a la OMb (Hunt *et al.*, 2012). Los microorganismos también pueden propiciar cambio en el color, generando principalmente pigmentaciones verdosas, la molécula producida se llama sulfomioglobina (SMb), característica de la presencia de desarrollo microbiano, por la reacción del SH_2 producido por los microorganismos y el oxígeno atmosférico, la SMb se puede llegar a oxidar hasta metasulfomioglobina (MSMb) que dará un color rojo (Hunt *et al.*, 2012).

1.4.2 Espectrofotometría de reflectancia

Es el método de análisis óptico más utilizado en el área de la investigación. El color se puede evaluar a partir de las coordenadas fijadas por la Comisión Internacional de Iluminación (CIE), luminosidad (L^*), cromaticidad verde-rojo (a^*) y cromaticidad amarillo-azul (b^*). Los espectrofotómetros de reflectancia miden la cantidad proporcional de luz reflejada por una superficie como una función de las longitudes de onda para producir un espectro de reflectancia. El espectro de reflectancia de una muestra se puede usar, junto con la función del observador estándar CIE y la distribución relativa de energía espectral de un iluminante para calcular los valores tri-estímulo CIE XYZ para las muestras de análisis. Los métodos espectroscópicos se basan en la capacidad de las sustancias de absorber o emitir radiación electromagnética, y tales métodos se pueden emplear para determinar la concentración de un reactivo o producto durante una reacción (Hunt *et al.*, 2012).

1.4.2.1 Sistema CIELab colorimetría

La luz visible es una parte del espectro electromagnético, que se define por las longitudes de onda de energía y emisión que incluye infrarrojos, ultravioleta, rayos X, rayos gamma y rayos cósmicos. Sin embargo, los seres humanos sólo pueden detectar la luz en el espectro visual, que

va desde 390 hasta 750nm. En este estrecho rango del espectro electromagnético, el ojo y el cerebro humano tienen la capacidad para separar las longitudes de onda en grupos de colores. Por ejemplo, el color rojo se asocia con la luz de aproximadamente 650 a 700nm de longitud de onda, el verde de 490 a 575nm y el azul de 455 a 490nm. Para facilitar la comunicación de color, se han desarrollado herramientas para ayudar al lenguaje del color, el modelo CIELab se usa para describir todos los colores que puede ver el ojo humano. Este sistema indica que alrededor de la periferia corresponden a los colores primarios rojo, verde y azul (figura 6). El diagrama de cromaticidad permitió trazar coordenadas para determinar el matiz y la saturación (intensidad) del color. El eje a^* se extiende desde el verde ($-a^*$) al rojo ($+a^*$) y el eje b^* desde el azul ($-b^*$) al amarillo ($+b^*$). El brillo (L^*) aumenta desde la parte inferior hasta la parte superior del modelo tridimensional (Hunt *et al.*, 2012).

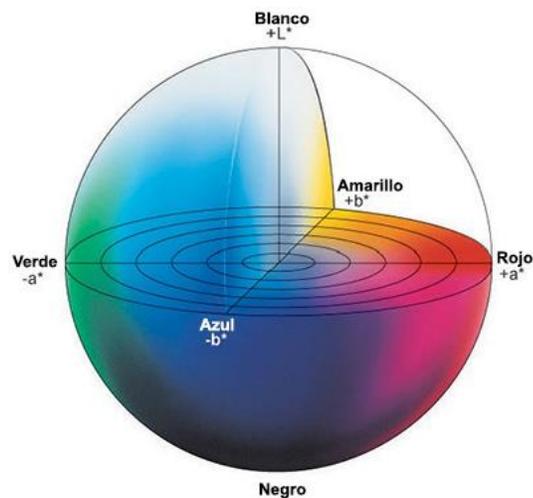


Figura 6. Modelo de color CIELab (Hunt *et al.*, 2012)

Propiedades del color:

- Matiz: Es la forma de percibir el color de un objeto amarillo, rojo, verde, azul, etc.
- Croma (C^*): También llamado pureza o saturación, describe la parte llamativa o apagada de un color, es decir, indica si el color es matiz puro o se encuentra cerca de la escala de los grises.
- Luminosidad: Representa el grado de claridad de un color. Al comparar estos valores, los colores pueden ser clasificados como tenues u oscuros.

1.4.2.2 Curva Espectral

Para detectar el color, la luz debe reflejarse en el objeto que se está viendo y volver al ojo. Para tener desarrollo de color, la luz que ilumina el objeto debe tener el rango espectral que permita la reflectancia de las longitudes de onda correspondientes, que el ojo puede detectar y el cerebro interpretar como el color. Por lo tanto, con plena luz espectral visual se tiene la posibilidad de un número infinito de colores a desarrollar, cuando la luz golpea la carne, será absorbida, reflejada o dispersada; las longitudes de onda de la luz que se absorben no son perceptibles para el ojo porque son retenidas por el objeto (por ejemplo, carne), sin embargo, la luz reflejada es percibida y capturada por el ojo y se transmite al cerebro. Debido a que el ojo es tricromático, el cerebro interpreta la intensidad de los estímulos azules, verdes y rojos como un color. Así, para discernir el color de la carne, la fuente de luz debe contener las longitudes de onda capaces de reflejar fuera de las superficies de la carne, o el color no será perceptible para el ojo o para un detector instrumental. Por lo tanto, la fuente de luz debe ser estandarizada. En general, los humanos para ver el verdadero color de un objeto, necesitan una fuente de luz equilibrada. En resumen, una fuente de luz, tal como la lámpara incandescente, hará que la carne fresca sea más brillante que una lámpara fluorescente de 5000 K con una salida roja más baja. En la figura 7 se representa el coeficiente de reflexión o porcentaje de reflectancia (R), se caracteriza por ser un parámetro íntimamente ligado a la estructura del músculo en superficie y se define como el cociente entre la luz reflejada y la luz incidente (I_r/I_i). (Hunt *et al.*, 2012).

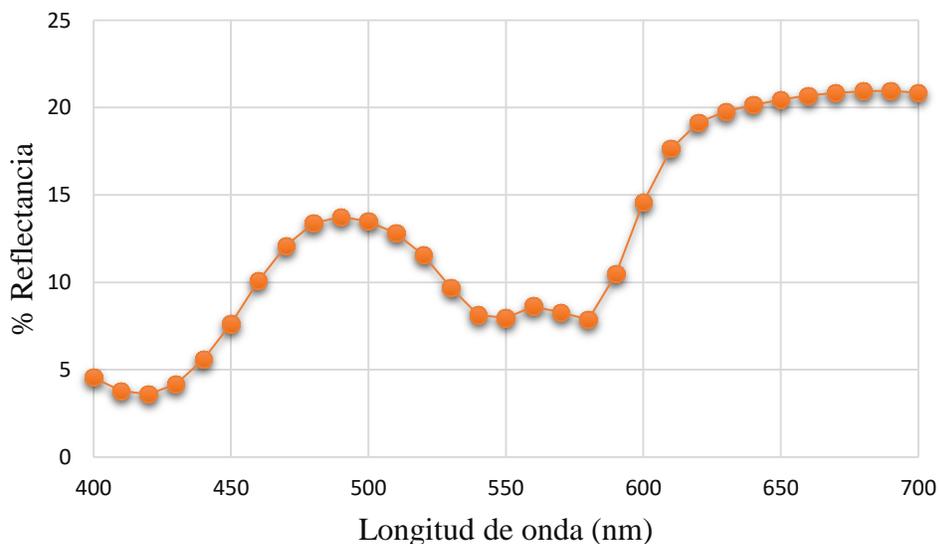


Figura 7. Curva espectral (Hunt *et al.*, 2012)

1.5 Microbiota de origen de la carne

La masa interna de la carne no contiene microorganismos o éstos son escasos. Sin embargo, debido a la gran variedad de fuentes de contaminación, en la superficie externa del animal, además de su microbiota natural existe un gran número de especies de microorganismos provenientes del suelo, agua, piensos y estiércol, los tipos de microorganismos que suelen encontrarse en la carne son muchos. Entre las muchas bacterias que pueden hallarse, las más importantes son las de género *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Salmonella* y *Streptomyces* (Hugas *et al.*, 1998).

1.5.1 Bacterias ácido lácticas (BAL)

Con la denominación de “bacterias ácido lácticas” (BAL) se generaliza a un grupo de bacterias que fermentan azúcares como glucosa y lactosa para producir ácido láctico. Estas bacterias se caracterizan por ser generalmente cocos o bacilos Gram positivos, poseen una pared celular muy gruesa, son inmóviles, no reducen nitratos, son ácido tolerantes (la mayoría crece a pH entre 4 y 4.5, son microaerófilas o aerobias facultativas, son consideradas mesófilas pero pueden crecer en rangos de 4 y 45°C y generalmente son catalasa-negativas, no formadoras de esporas, requieren de purinas y pirimidinas ya formadas, aminoácidos y vitamina B para su reproducción, con actividad proteolítica sobre las proteínas miofibrilares, y degradación de las proteínas, con poca actividad lipolítica, ya que no participan en la degradación de los enlaces éster de los triglicéridos y fosfolípidos. Realizan la fosforilación a nivel sustrato para obtener energía (Bamforth, 2005).

Los géneros representativos de las BAL se denominan: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* y *Pediococcus*. Con excepción de *Bifidobacterium*, todos son aerobios. Estos microorganismos se pueden clasificar además por su metabolismo, en homofermentativos y heterofermentativos, los primeros producen exclusivamente ácido láctico, mientras que los segundos, producen además ácido acético, etanol y dióxido de carbono. Otras características deseables de las BAL, son que pueden mejorar el sabor y la textura y en algunos casos aumentan el valor nutricional. Debido a que las BAL son termorresistentes ya que soportan temperaturas de hasta 45°C y se activan a pH bajos, se han utilizado en la bioconservación de carne y productos cárnicos como cultivos protectores, destacándose por su producción de ácido láctico y otros metabolitos relacionados con fenómenos de antagonismo, que son capaces de

controlar e inhibir el crecimiento de bacterias no deseadas, tanto patógenas como deteriorantes (Hugas *et al.*, 1998).

1.6 Bacterias alterantes de la carne

La contaminación más importante es de origen externo y se produce durante el desangrado, desuello y cuarteado, los microorganismos proceden principalmente de las partes externas del animal (piel, pezuña y pelo) y del tracto intestinal, entre las que destacan las bacterias mesófilas aerobias y los coliformes.

En el cuadro 5 se muestran los principales géneros de bacterias que pueden estar presentes en la carne debido a una contaminación como resultado de una deficiente manipulación y manejo de la materia prima, y los cuales pueden ser identificados mediante la tinción de Gram.

Cuadro 3. Principales géneros bacterianos de los alimentos

Tipo	Género
Gram negativos: Bacilos microaerófilos espirales o curvos	<i>Campylobacter</i>
Gram negativos: Aerobios de forma bacilar o cocacea	<i>Acetobacter, Acinetobacter, Alcaligenes, Alteromonas, Brucella, Flavobacterium, Halobacterium, Halococcus, Moraxella, Pseudomonas</i>
Gram negativos: Bacilos anaerobios facultativos	<i>Aeromonas, Enterobacter, Erwina, Escherichia, Proteus, Salmonella, Serratia, Shigela, Vibrio, Yersina</i>
Gram positivos: Cocos	<i>Leuconostoc, Micrococcus, Pediococcus, Staphylococcus, Streptococcus</i>
Gram positivos: Bacilos regulares no esporulados	<i>Brochothrix, Lactobacillus, Listeria</i>
Gram positivos: Bacilos regulares no esporulados	<i>Corynebacterium</i>
Gram positivos: Micobacterias	<i>Mycobacterium</i>

Fuentes: Pascual, 2000

1.6.1 Bacterias mesófilas aerobias

Las bacterias mesófilas aerobias, como grupo, son consideradas generalmente como organismos indicadores. Refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima (Bamforth, 2005). Características:

- Crecen en condiciones aerobias.
- Temperatura de incubación entre los 20 y los 37 °C.
- Pueden ser patógenas (causan enfermedades al organismo que invaden) o saprofitas (es decir viven libres en la naturaleza, se nutren de materia orgánica e inorgánica).

Recuentos altos en carne a menudo indican materias primas contaminadas por un manejo inapropiado o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario:

- En los productos cárnicos pueden indicar también condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento.
- La presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que pueden haberse dado condiciones favorables a la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal.
- Todas las Bacterias patógenas conocidas vehiculadas por la carne y los productos cárnicos son mesófilas y en algunos casos contribuyen con su presencia a los recuentos en placa encontrados.

1.6.2 Coliformes totales

Los coliformes son un grupo de bacterias que comparten características bioquímicas en común y son útiles como microorganismos indicadores de sanidad de alimentos y agua. En conjunto los coliformes están representados, por cuatro géneros de la familia *Enterobacteriaceae*: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter* (Ashbolt *et al.*, 2001). Los coliformes se clasifican en totales y fecales. Como características comunes de los coliformes totales destacan:

- Poseen morfología bacilar.
- Pueden ser aerobias o anaerobias facultativas.
- No forman endosporas.
- Gram negativas.

- Fermentan la lactosa produciendo ácido y gas en 24-38 horas a 36°C.

Los coliformes fecales comparten las mismas características que los totales, además:

- Crecen con lactosa y la fermentan a $44.5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ produciendo ácido y gas en las primeras 48 horas de incubación.
- Son coliformes termotolerantes. Incluye cepas de los géneros *Klebsiella* y *Escherichia* siendo esta última el más útil indicador de calidad higiénica de carne y productos cárnicos.

1.7 Métodos de conservación de la carne

Mientras el animal está vivo, los tejidos tienen propiedades bacteriostáticas y bactericidas, inmediatamente después de la muerte, los tejidos pierden su autodefensa y por esta razón es necesario elegir y aplicar inmediatamente algún tipo de conservación de la carne, según las condiciones y el destino de la misma. Entre los métodos más utilizados se encuentran:

1. Refrigeración (disminuye las velocidades de las reacciones).
2. Congelación (inmoviliza el agua, inactiva toda actividad metabólica, alarga la vida útil).
3. Irradiación (esterilización por las reacciones ionizantes).
4. Salazón (disminución de la actividad de agua, uso de salmueras).
5. Ahumado (uso de fenoles y difenoles, provocan una ligera disminución de la actividad de agua).
6. Secado (deshidratación por evaporación).

La importancia de los métodos de conservación recae en la capacidad de estos en hacer llegar hasta los consumidores un producto de óptima calidad que puede tener una vida útil de varios meses. Bajo el concepto conservación se considera más que evitar la putrefacción, inhibir o prevenir una alteración del sabor, aroma, textura, aspecto exterior, etc., que caracteriza la calidad de la carne o un producto cárnico.

1.7.1 Teoría de obstáculos de Leistner

Desde el punto de vista microbiológico, las tecnologías de barreras tienen un gran auge en la conservación de la carne al exponer a los microorganismos a un medio hostil (uno o más factores adversos) para prevenir o retardar su crecimiento, disminuir su supervivencia o causar su muerte. Ejemplos de tales factores son la acidez (bajo pH), la limitación del agua disponible para el

crecimiento por ejemplo reducción de la actividad de agua, las temperaturas bajas (refrigeración) y el envasado al vacío. Para ser efectivos, los factores de conservación deben superar la resistencia microbiana homeostática (Leistner *et al.*, 2002).

1.7.2 Refrigeración

El método más difundido para la conservación de la carne es la refrigeración (Delgado *et al.*, 2013), siendo las temperaturas entre 0 °C y 5 °C las recomendadas para productos como la carne fresca. La refrigeración es un proceso termodinámico donde se extrae el calor de un cuerpo, bajando así su temperatura; mediante la acción del frío el desarrollo de los microorganismos decrece hasta que se alcanza la temperatura mínima por debajo de la cual se inhibe el crecimiento totalmente (Prändl *et al.*, 1994). Entre la diversidad de la microbiota de la carne, las bacterias aerobias Gram negativas son las que adquieren mayor importancia y, dentro de éstas, distintas especies del género *Pseudomonas* son normalmente las responsables de la alteración de la carne refrigerada, en asociación con otras especies de Enterobacterias.

1.7.3 Envasado al vacío

El envasado se manifiesta ante el consumidor como una herramienta de comercialización, que además de alargar la vida útil, mejora la presentación del producto y le permite un uso más fácil del mismo adaptado a su conveniencia (Yam *et al.*, 2005). El envasado al vacío, hoy es extensamente utilizado en carne fresca, se aplica comúnmente en piezas de gran tamaño, como son los cortes primarios, secundarios, o los cuartos completos de las canales. La falta de oxígeno en el interior de los envases minimiza las reacciones oxidativas y el crecimiento de bacterias aerobias (Zhou *et al.*, 2010), para conseguir que las condiciones de anaerobiosis se mantengan en el tiempo es fundamental usar materiales que sean impermeables a los gases. El envasado al vacío, si bien es el más eficiente para conservar la calidad microbiológica de la carne si se utiliza en conjunto con refrigeración, tiene la desventaja de que en ausencia de oxígeno no se desarrolla el color rojo vivo deseado por el consumidor; al abrir el empaque y exponer la carne al aire se produce el llamado *blooming*, que es cuando se oxigena la mioglobina y se produce oximioglobina y el color de la carne vuelve a ser rojo brillante y más apetecible (Hechelmann *et al.*, 1974).

1.7.4 Uso de conservadores

En la actualidad ha surgido la necesidad de buscar alternativas de conservación, esto debido a que se ha asociado el consumo de conservadores químicos con intoxicaciones. La demanda de productos frescos mínimamente tratados está aumentando, así como el interés por los agentes antimicrobianos de origen orgánico, por esto en la actualidad se busca la combinación de dos o más factores que interaccionen activa o sinérgicamente para controlar a la población microbiana, permitiendo con esto productos semejantes al producto fresco pero con menos aditivos químicos; cabe señalar que la velocidad de deterioro microbiológico no solo depende de los microorganismos presentes, sino también de la combinación química del producto y del tipo de carga microbiana inicial. Es por ello que el principal objetivo del procesamiento de alimentos es proveer bienestar al ser humano por medio de alimentos seguros, nutricionalmente adecuados y cubrir las expectativas de sabor, aroma y apariencia, por lo cual el uso de aditivos alimentarios de origen orgánico implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos a los alimentos con fines antimicrobianos, sin que afecte negativamente a las características sensoriales.

1.8 Bioconservación como estrategia para prolongar la vida útil de la carne

La bioconservación consiste en prolongar la vida útil de los alimentos empleando la microbiota natural, o mediante la adición de bacterias ácido lácticas o sus metabolitos (Fernández *et al.*, 1988). En la actualidad las bacterias ácido lácticas (BAL) tienen una gran importancia en la innovación tecnológica alimentaria, debido a que producen metabolitos tales como los ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, reuterina, bacteriocinas, etc. que ayudan en la conservación de alimentos, contribuyen a la inhibición de microorganismos patógenos involucrados en enfermedades transmitidas por alimentos (Hugas, 1998).

1.8.1 Uso de sales de ácidos orgánicos

El ácido láctico es un ácido orgánico de tres carbonos, uno de los cuales forma el único grupo carboxilo de la molécula. El ácido láctico es la forma molecular, por tanto, tiene protonado su carboxilo (-COOH), mientras que el lactato presenta ionizado dicho grupo funcional (-COO⁻) por la liberación del hidrógeno en forma de hidrogenión (H⁺). Ambas son formas interconvertibles a valores de pH bajos ya que el pK del ácido láctico es de 3.86. Esto significa que a pH 3.86, la mitad de las moléculas estarían como ácido láctico y la otra mitad como lactato. Si el pH se

disminuye, aumenta la proporción ácido láctico vs. lactato, pudiendo alcanzarse un valor de pH en el que el 100% de las moléculas sean de ácido láctico. El lactato se forma a partir de piruvato, producido a partir de glucosa (vía glucolítica) y de la transaminación del aminoácido alanina. Observe en la figura 3 que la reacción consiste en la reducción de piruvato con dos hidrógenos que dona el cofactor NADH + H⁺ (Stryer, 1995). Cada microorganismo requiere un pH mínimo, óptimo y máximo de crecimiento (cuadro 3) aunque en su mayoría crecen en forma óptima en un intervalo que va de 6.5 hasta 7.5, estos factores dependen de factores propios de cada alimento, como la *a_w*, el contenido de nutrientes, entre otros; como la temperatura, el pH es un medio para controlar la proliferación microbiana ya que tiene un impacto significativo en la letalidad del tratamiento térmico ya que menos calor será necesario para inactivar microorganismos si el pH es reducido (Guerrero, 2007)

Cuadro 4. Valores aproximados de pH para el crecimiento de microorganismos en alimentos

Bacterias	pH mínimo	pH máximo
Gram negativas		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5.6	8.0
<i>Salmonella paratyphi</i>	4.5	7.8
Gram positivas		
<i>Bacillus subtilis</i>	4.5	8.5
<i>Streptococcus lactis</i>	4.3-4.8	9.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.0	9.8
<i>Clostridium botulinum</i>	4.7	8.5

Fuente: ICMSF, 1983

El lactato actúa como agente bacteriostático incrementando la fase de latencia de los microorganismos. La acción específica del lactato se atribuye a mecanismos que interfieren en el metabolismo microbiano tales como la acidificación intracelular y la interferencia del transporte de protones a través de la membrana celular. El lactato tiene un espectro de actuación amplio, mostrándose efectivo contra microorganismos Gram-positivos y Gram-negativos. Entre ellos, se ha descrito su capacidad para inhibir el crecimiento de patógenos tales como *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *Clostridium* (Jerez, 2005). La adición de lactatos a alimentos con valores de pH neutros favorece la extensión de su vida útil (Houtsma *et al.*, 1993). Cantidades de lactato entre un 2-4% inhibieron el crecimiento de *L. monocytogenes* en productos cárnicos refrigerados a 1 y 10°C (Weaver *et al.*, 1993). El uso de lactato potásico (E-326) y lactato cálcico

(E-327) como aditivos para la fabricación de productos cárnicos está permitido en Estados Unidos de América (FSIS/USDA, 2000) como seguros para el consumo humano. En cuanto al lactato, no se han detectado connotaciones sensoriales negativas derivadas de su aplicación entre el 2-4%.

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 Justificación

La industria cárnica busca constantemente nuevas alternativas para añadir valor a sus productos al tratarse de alimentos altamente perecederos. Un ejemplo es la aplicación de sales de ácidos orgánicos en carne cruda para agregar sabor y extender la vida útil. De ahí la importancia del uso de conservadores orgánicos, aditivos “generalmente reconocidos como seguros” (GRAS). La carne y productos cárnicos están relacionados como responsables de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), situación que pone de manifiesto la importancia de la aplicación escrupulosa de medidas de control higiénico preventivas y de la oportunidad de incorporar barreras de seguridad en los elaborados cárnicos. Los lactatos y otras sales han demostrado su eficacia como métodos complementarios preventivos. El uso de sales de ácidos orgánicos como el lactato de potasio y el lactato de calcio, ayudan a reducir los factores asociados con la corta vida útil. Estos dos conservantes poseen el *estatus* GRAS y son seguros para el consumo humano, inhiben eficazmente el crecimiento de microorganismos deteriorantes y patógenos en combinación con bajas temperaturas y atmósferas modificadas.

2.2 Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación combinada de lactato de potasio o de calcio, envasado al vacío y almacenamiento en refrigeración, de carne de res, sobre algunos parámetros físicos, fisicoquímicos y microbiológicos, para establecer su calidad tras 14 días de almacenamiento.

Objetivos particulares

1. Demostrar el efecto de la aplicación combinada de lactato de potasio o de calcio, envasado al vacío y refrigeración a 4°C, de carne de res, sobre el pH y a_w para definir los cambios en su calidad tras 14 días de almacenamiento.
2. Fundamentar el efecto de la aplicación combinada de lactato de potasio o de calcio, envasado al vacío y refrigeración a 4°C, de carne de res, sobre los parámetros de perfil de color, para identificar las especies químicas de la mioglobina, tras 14 días de almacenamiento.
3. Verificar el efecto de la aplicación combinada de lactato de potasio o de calcio, envasado al vacío y refrigeración a 4°C, de carne de res sobre las cuentas de mesófilos aerobios y coliformes totales, para establecer su calidad sanitaria, tras 14 días de almacenamiento.

Hipótesis

Si la combinación de tecnologías de barreras poseen un efecto benéfico sobre la calidad de carne de res, entonces la aplicación de lactato de potasio o de calcio combinado con un envasado al vacío y refrigeración a 4°C, mantendrá el color inicial de la carne con predominio de oximioglobina, se reducirá la actividad de agua y el pH, y con ello los logaritmos de unidades formadoras de colonia de bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales, prolongando a su vez el tiempo de vida útil.

2.3 Cuadro metodológico

En la figura 8 se presenta el cuadro metodológico, el cual contiene la metodología experimental que se llevó a cabo para la realización de este trabajo.

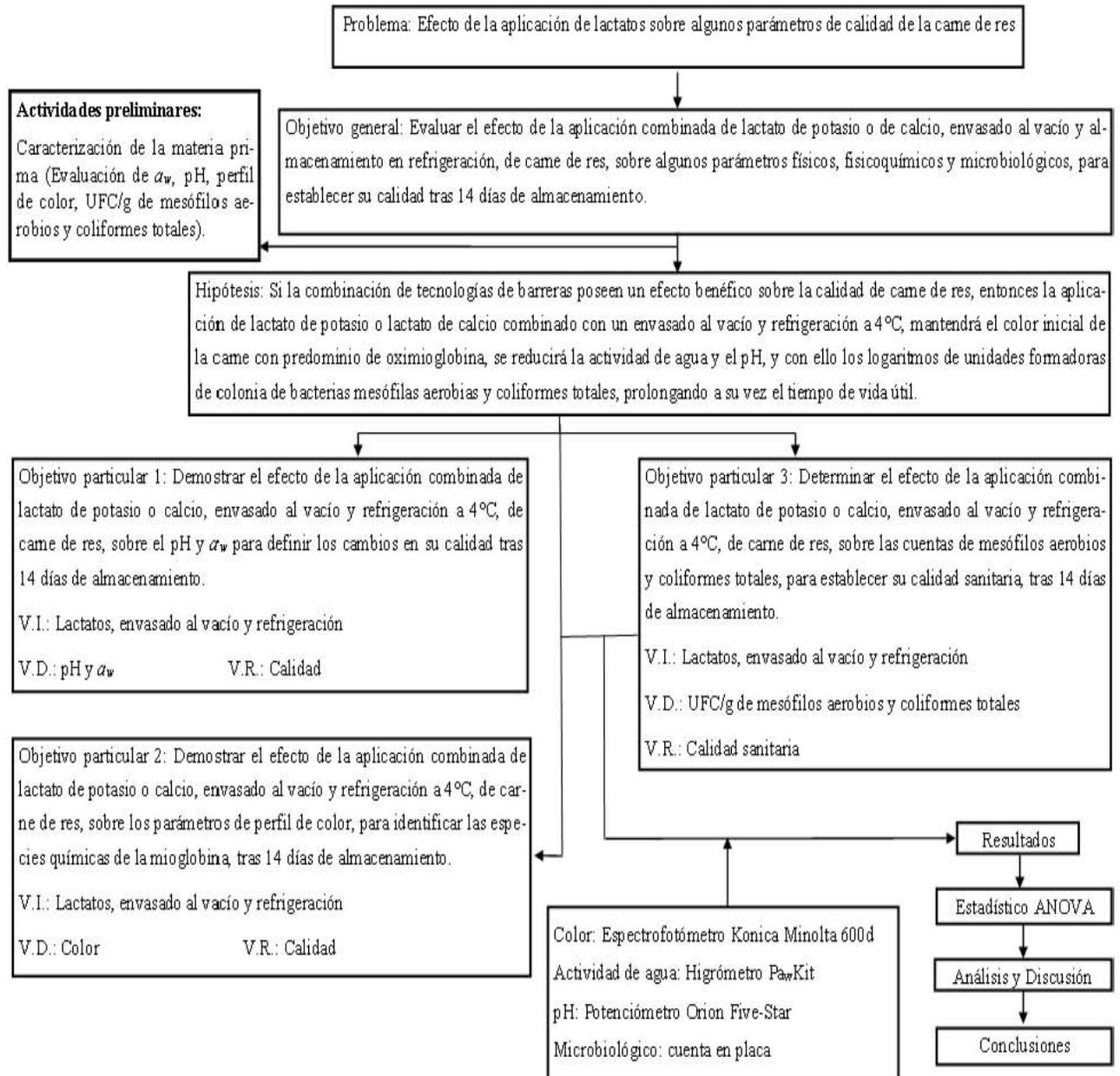


Figura 8. Cuadro metodológico

2.4 Materiales y métodos

Como actividades preliminares se inició con el reconocimiento de los equipos y métodos con los cuales fueron evaluados los parámetros de interés de este proyecto; para ello se revisó cada uno de los manuales de cada equipo, lo cual fue de gran importancia para conocer y controlar el correcto funcionamiento de los mismos, además de asegurar la confiabilidad y calidad de los ensayos realizados. Las siguientes pruebas se realizaron en todos los tratamientos, el lote con lactato de potasio, lote con lactato de calcio, lote control (sin sal, sólo envasada al vacío) y en la materia prima (carne sin tratamiento), se hicieron por triplicado, a excepción de la evaluación microbiológica que se realizó por duplicado. Fue importante determinar los parámetros de interés en la materia prima (cuadro 4), para realizar una discusión de los cambios que generaron los lactatos y las tecnologías empleadas (el vacío y la refrigeración) en los lotes experimentales durante su almacenamiento.

Cuadro 5. Caracterización de la materia prima

Parámetro	Valor (promedio)
a_w	0.93
pH	5.51
L *	38.14
a *	19.19
b *	12.62
log UFC/g (mesófilos)	4
log UFC/g (coliformes totales)	4

2.4.1 Evaluación de actividad (a_w)

La determinación se realizó con un higrómetro Pa_wkit Aqualab (figura 9). Primero se colocó el equipo en una superficie plana, después la muestra en el recipiente, se levantó la tapa inferior, despejando el sensor y se presionó el botón I para iniciar la lectura. Los rayos marcados del resplandor indican que la lectura ha finalizado, es importante registrar la temperatura final para realizar una corrección en caso necesario con la ecuación integrada de Clausius-Clapeyron (ecuación 1).



Figura 9. Pa_wkit

Ecuación 1:

$$\frac{\Delta H_{vap}}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) = x \quad \text{por tanto} \quad a_w = e^x + a_w(\text{errónea})$$

Dónde:

ΔH_{vap} : Entalpía de vaporización del agua (40610 kJ/mol)

R: Constante de los gases ideales (8.314 J/mol*K)

T1: Temperatura interna a la que se realizó la prueba (K)

T2: Temperatura ambiente (K)

2.4.2 Evaluación de pH de la carne

La determinación de pH se realizó con un potenciómetro digital (figura 10), para la calibración del electrodo Orion 8135BNUWP se utilizaron 2 soluciones buffer Orion, la primera con pH de 4 y la segunda de 7 para calibrar a un rango de pH congruente al de la carne de res, que de acuerdo con la literatura oscila entre 5.5 y 6.4; después de la inmersión en cada una de las soluciones buffer el electrodo se enjuagó con agua destilada y se secó cuidadosamente, posteriormente el electrodo se colocó sobre la muestra y se registró la lectura una vez estabilizado el icono del pH.



Figura 10. Potenciómetro Orion Five-Star

2.4.3 Evaluación de los parámetros de perfil de color

Antes de realizar la medición, las muestras a evaluar se expusieron al oxígeno del ambiente durante 30 minutos para permitir la estabilización de la mioglobina (*blooming*), para lograr la reducción de la metamioglobina a oximioglobina es recomendable realizar el *blooming* a temperaturas bajas de 0 a 4°C, ya que a esta temperatura la oximioglobina es más estable.

Se utilizó un espectrofotómetro Konica Minolta CM-600d (figura 11), el funcionamiento de este instrumento consiste en iluminar la muestra con luz blanca y calcular la cantidad de luz que refleja dicha muestra en una serie de intervalos de longitudes de onda. Se realizó la calibración del cero, esto se hizo tomando una lectura del ambiente en donde se realizó la lectura, seguida de la calibración en blanco, que es cubriendo el puerto de medición con un capuchón para calibración, la muestra se colocó en una caja Petri seguida del lente anti reflejante (cuarzo), se realizó la prueba y se registraron los valores L^* , a^* y b^* . Al finalizar la lectura se limpió el lente anti reflejante.

La diferencia de color (ΔE^*) para cada muestra se calculó de la siguiente manera:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})}$$

Dónde:

ΔE : Cambio de color

ΔL^* : Valor de L^* de tratamiento - Valor de L^* de materia prima

Δa^* : Valor de a^* de tratamiento - Valor de a^* de materia prima

Δb^* : Valor de b^* de tratamiento - Valor de b^* de materia prima



Figura 11. Colorímetro Konica Minolta CM-600d

2.4.4 Evaluación de las bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales

Se evaluó la calidad microbiológica de carne de res envasada al vacío y almacenada en refrigeración, siguiendo la metodología descrita por las normas oficiales mexicanas: NOM-110-SSA1-1994. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico, NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa, NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa y NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

2.4.4.1 Preparación de agua peptonada

La preparación del agua peptonada se hizo con base a lo planteado por la NOM-110-SSA1-1994. En un frasco sin esterilizar marca *Schott* Duran con tapa roscada (figura 12) con capacidad de 500mL se añadieron 0.3g de peptona de caseína marca BIOXON, 2.55g de Cloruro de sodio y 300mL de agua destilada, se disolvió hasta obtener una solución homogénea. Se midió el pH (Potenciómetro Thermo Orión Five-Star) y se estandarizó con hidróxido de sodio 0.1N a un valor de 7, en tubos de ensaye de 16x150mm con tapón de rosca, en 10 tubos de ensaye se vertió 9mL de agua peptonada en cada uno de ellos, colocándole su tapa a cada frasco sin cerrar completamente, se identificaron con una etiqueta para su uso posterior para cada disolución; posteriormente en dos frascos sin esterilizar marca *Schott* Duran con tapa roscada con capacidad

de 250mL se vertió 90mL de agua peptonada en cada uno de ellos, preparado el material anterior se esterilizó por 15min a $121 \pm 1^\circ\text{C}$, el frasco con 90mL de agua así como los tubos de ensaye se colocaron en un vaso de precipitado de plástico de 2L procurando que no tuvieran tanta fricción entre ellos. Terminado el proceso de esterilización el frasco y los tubos que contenían el agua peptonada se colocaron en una campana de flujo laminar, con el fin de evitar una contaminación y promover un manejo higiénico del material y los reactivos.



Figura 12. Frasco *Schott*

2.4.4.2 Medios de cultivo

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. En la actualidad, la mayoría de los medios de cultivo se encuentran comercializados, normalmente como productos liofilizados que es necesario hidratar. En general la preparación de un medio de cultivo consiste en pesar la cantidad necesaria del polvo liofilizado, disolverlo en agua destilada (libre de inhibidores del crecimiento) siguiendo las instrucciones del fabricante y esterilizar la disolución, previa comprobación y corrección del pH si es necesario. Se preparó un medio selectivo de agar bilis rojo violeta que permitió sólo el crecimiento de coliformes totales e inhibió el desarrollo del resto. Para determinar la presencia de bacterias mesófilas aerobias se utilizó el agar triptona-extracto de levadura.

2.4.4.2.1 Preparación de agar triptona extracto de levadura para la determinación de cuenta estándar

De acuerdo con lo establecido en la NOM-092-SSA1-1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa, se preparó el medio de cultivo. En un frasco marca *Schott* Duran con tapa

roscada con capacidad de 500mL se añadieron 0.75g de extracto de levadura, 1.5g de triptona, 0.3g de dextrosa, 4.5g de agar bacteriológico, la mezcla se hidrató con 300mL de agua destilada, se agitó hasta su completa disolución, se dejó en reposo por algunos minutos, se midió el pH (Potenciómetro Thermo Orión 5-Star) y se estandarizó con hidróxido de sodio 0.1N a un valor de 7 ± 0.2 a 25°C . Se esterilizó en autoclave por 15min a $121\pm 1^{\circ}\text{C}$. Después de la esterilización se enfrió el cultivo a $45^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ en baño de agua, se mantuvo a esta temperatura hasta antes de su uso.

2.4.4.2 Preparación de agar bilis y rojo violeta

De acuerdo con lo establecido en la NOM-113-SSA1-1994. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa, se preparó el medio de cultivo. En un frasco marca *Schott* Duran con tapa roscada con capacidad de 500mL se añadieron 12.45g de polvo ABRV marca BIOXON y se hidrató con 300mL de agua potable, se agitó hasta su completa disolución, se dejó en reposo por algunos minutos, se midió el pH (Potenciómetro Thermo Orión 5-Star) y se estandarizó con hidróxido de sodio 1N a un valor de 7.2. Se esterilizó en autoclave por 15min a $121\pm 1^{\circ}\text{C}$. Enfriar inmediatamente el medio en un baño de agua hasta que llegue a 45°C

2.4.4.3 Esterilización del material

En la autoclave se colocó una caja de puntas para micropipetas de 1mL, una caja de puntas para micropipetas de 20 μL , 8 cajas Petri con tapa (envueltas con papel), 2 cajas Petri más para pesar la muestra, los frascos y tubos de ensaye con agua peptonada, los frascos con los diferentes agares y 1 frasco marca *Schott* Duran con tapa roscada de 900mL con 500mL de agua potable. Se esterilizó en autoclave por 45min a $121\pm 1^{\circ}\text{C}$.

2.4.4.4 Preparación de placas

Una vez esterilizados los cultivos, se colocaron en la campana de flujo laminar (figura 14) con ventilación y luz ultravioleta, después de 10 minutos se vertió de 15 a 20mL de cultivo en cada caja Petri estéril, se dejaron en reposo durante 15 minutos (figura 13), ya solidificados se invirtieron y se incubaron a temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24 horas. Se comprobó la prueba de esterilidad de todas las placas (ausencia de microorganismos vivos). La prueba se realizó por duplicado para cada cultivo.

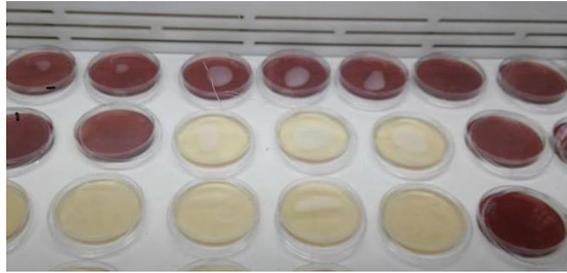


Figura 13. Placas de agar bilis rojo violeta y extracto de levadura

2.4.4.5 Preparación de la dilución primaria

Se lavaron perfectamente 2 cuchillos, 2 vasos de licuadora con su correspondiente empaque, tapa y cuchillas, 2 tablas para picar, 1 gradilla, 1 vaso de precipitado de plástico de 500mL, se secaron y se colocaron dentro de la campana de flujo laminar. Se instaló la balanza analítica y el motor de la licuadora cerca de la campana, se encendió la campana de flujo laminar (aire y luz ultravioleta) durante 10 minutos para asegurar la pureza del aire y la esterilidad del material. Conforme a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico; se pesaron 10g de muestra (carne de res) en la balanza analítica y se adicionó al vaso de la licuadora, posteriormente se agregó 90mL de agua peptonada estéril, se licuó durante un minuto y treinta segundos para obtener una muestra homogénea, se dejó reposar por unos segundos para permitir que las partículas grandes se sedimentaran y entonces transferir la cantidad deseada tomando de las capas superiores la suspensión.



Figura 14. Campana de flujo laminar

2.4.4.6 Preparación de diluciones decimales

Una vez obtenida la dilución primaria de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994, se añadió 1 mL de esta al tubo de ensaye que contenía 9 mL de agua peptonada estéril, se cerró perfectamente y se agitó la muestra manualmente con 25 movimientos de arriba a abajo en un ángulo de 30°, una vez conseguida la homogenización de la primera dilución, se añadió 1 mL de esta en un tubo de ensaye con 9 mL del diluyente, se agitó manualmente para conseguir la segunda dilución, evitando el contacto entre la pipeta y el diluyente, estos pasos se repitieron hasta obtener la quinta dilución (figura 15).

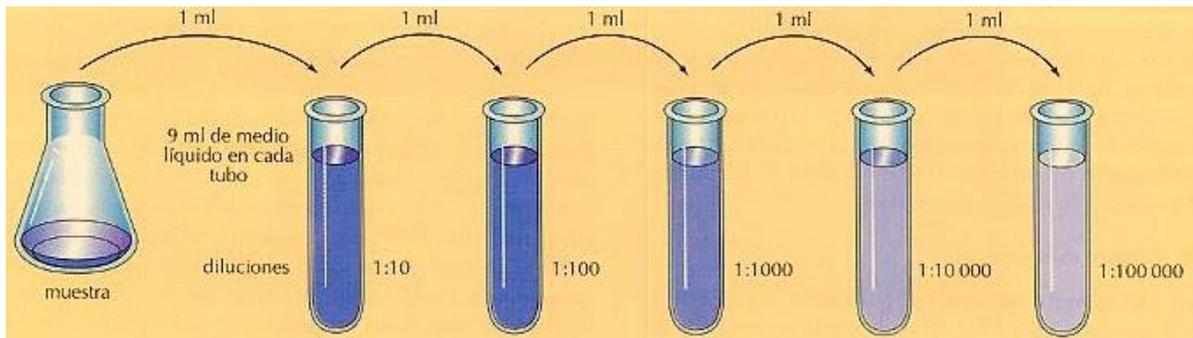


Figura 15. Serie de diluciones

2.4.4.7 Sembrado en superficie

Pasada la prueba de esterilidad, la base de cada placa se fraccionó en tres secciones y se identificó para cada dilución, se colocaron 3 gotas de 20 μ L de cada dilución por sección y se dejaron secar (figura 16). Después de que se realizó la siembra, las cajas tanto de agar bilis rojo violeta como de extracto de levadura se incubaron durante 48 h a 35°C. Todo lo anterior se realizó por duplicado para cada agar.

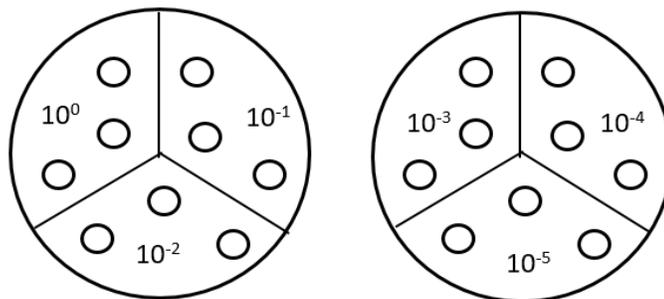


Figura 16. Siembra en placa en superficie

2.4.4.8 Conteo de colonias

El conteo se realizó en base a lo establecido por la NOM-092-SSA1-1994 y la NOM-113-SSA1-1994. Se utilizó un contador de colonias de campo obscuro (figura 17), el cual cuenta con una luz de contraste, una placa de cristal cuadrículada y un lente amplificador. Se utilizaron solo las placas representativas, es decir, aquellas que contenían entre 25 y 250 colonias en el agar triptona-extracto de levadura, 15 y 150 colonias en agar bilis rojo violeta, esto para disminuir el error en la cuenta, se calculó el número de microorganismos por gramo de muestra, multiplicando el número de colonias por el factor decimal de dilución (FDD) correspondiente a la placa más representativa (ecuación 2).

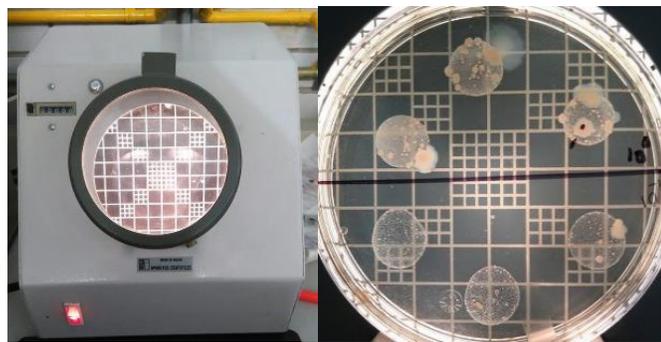


Figura 17. Contador de colonias

Cálculo de las UFC/g:

a) Factor de dilución (FD):

Título de dilución decimal*Títulos de diluciones sucesivas

Ejemplo:

1/10 (dilución inicial)*1/10*1/10 (diluciones siguientes)

FD = 1/1000 = 0.001

b) Factor decimal de dilución (FDD)

FDD = 1/FD = 1/0.001 = 1000

Ecuación 2:

$$\frac{\text{UFC}}{\text{g}} = \frac{\text{Núm. de colonias significativas en la última placa considerada} * \text{FDD}}{\text{Volumen inicial sembrado}}$$

2.4.5 Tinción de Gram

De las cajas Petri que presentaron un crecimiento de microorganismos coliformes totales y mesófilos aerobios, se eligieron aquellas cuyas colonias eran diferentes (figura 19), se realizó una tinción de Gram y se identificó el tipo de bacteria. Con un mechero de Bunsen y una asa bacteriológica flameada se tomaron las colonias y se colocaron sobre un porta objeto limpio, se dejaron secar las muestras por algunos minutos; se tiñó con una gota de solución de colorante básico cristal violeta dejando actuar durante 1 minuto, se enjuagó con agua; en seguida se aplicó una gota de solución de Lugol (iodo molecular/ioduro de potasio) y se dejó actuar por 1 minuto, posteriormente se aplicó un tratamiento con alcohol-acetona y se enjuagó inmediatamente con agua, se adicionó una coloración de safranina durante 1 minuto; los porta objetos se dejaron secar para posteriormente ser identificados en el microscopio.

Función de los colorantes y solventes del kit de tinción de Gram (figura 18):

- Cristal violeta: Es un colorante primario, el cual tiene afinidad con el peptidoglicano de la pared bacteriana, por lo que las bacterias Gram positivas lo retienen con mayor fuerza, a comparación de las Gram negativas.
- Lugol: Disolución que sirve como mordiente e impide la salida del cristal violeta por la formación de un complejo cristal violeta-yodo que satura los espacios del peptidoglicano de la pared bacteriana.
- Alcohol-acetona: Es un solvente orgánico que deshidrata la pared bacteriana y cierra los poros de la misma, destruye la membrana externa de las bacterias Gram negativas debido a que ésta es soluble a la acción de solventes orgánicos. Las bacterias Gram positivas, al contener una gran cantidad de peptidoglicano, retienen con mayor fuerza este complejo, mientras que las Gram negativas no lo pueden retener por tener menos cantidad de peptidoglicano.
- Safranina: Funciona como un colorante secundario o de contra tinción y sirve para teñir las bacterias que no pudieron retener el complejo cristal violeta-yodo.

Se utilizó el Kit para tinción de Gram marca BD (*Becton Dickinson*)

Reactivo 1: Violeta cristal en solución (líquido inflamable, toxicidad acuática crónica).

Reactivo 2: Solución de Lugol estabilizada (color marrón, pH 2 a 20-22°C, toxicidad acuática crónica, provoca irritación ocular).

Reactivo 3: Solución decolorante (mezcla de disolventes alcohol-acetona, es un líquido inflamable, provoca irritación ocular, somnolencia o vértigo).

Reactivo 4: Solución decolorizante (líquido inflamable, provoca irritación ocular)



Figura 18. Kit de tinción de Gram



Figura 19. Selección de colonias para tinción de Gram

2.4.5.1 Microscopía óptica

Después de la tinción de Gram con un microscopio Olympus y con el objetivo 100x se identificó la morfología de los microorganismos presentes en las muestras (figura 20). Sobre la muestra se

aplicó una gota de aceite de inmersión para después ser cubierto con un cubreobjetos para su observación en el microscopio.

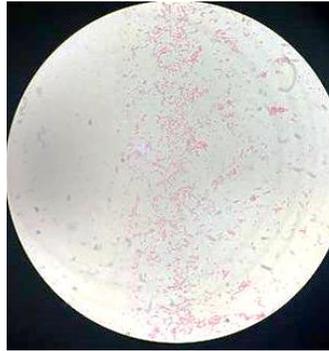


Figura 20. Microscopio óptico

2.5 Preparación de lotes experimentales

La materia prima con la que se trabajó en esta experimentación fue carne de res, específicamente el corte denominado “cuete”, los cuales se obtuvieron del Centro de distribución San Juan, Estado de Hidalgo, después de 48 horas de su sacrificio; para la posterior obtención de las unidades experimentales y aplicación de los tratamientos.

A temperatura ambiente se obtuvieron placas de carne de 5x10x1cm, posteriormente se prepararon 3 lotes, cada uno con 9 unidades experimentales, el primero fue el control, es decir, la carne sin lactato envasada al vacío, el segundo lote de placas adicionadas con una solución de lactato de potasio al 3% y el tercer lote fue placas adicionadas con lactato de calcio al 3%, todos los lotes fueron envasados al vacío en una envasadora marca Inauen modelo VC999 K2-K3 (figura 21) para propiciar la condición de anaerobiosis; una vez envasadas las muestras se refrigeraron a una temperatura de 4°C en un refrigerador TORREY modelo R36L-4P. Cada lote fue evaluado en el transcurso de 2 semanas (día inicial, día 7 y día 14).

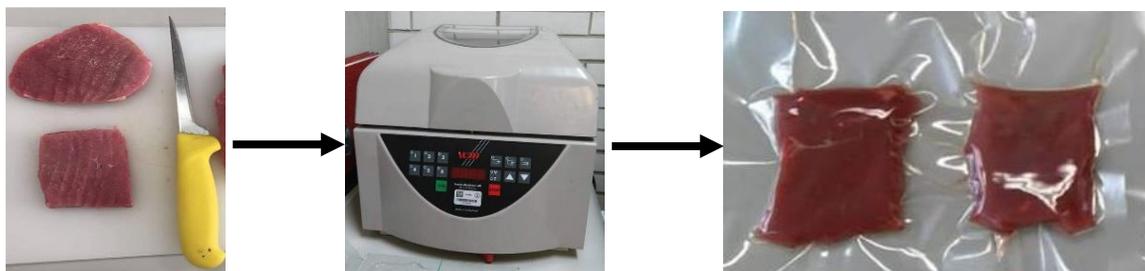


Figura 21. Envasado al vacío

CAPÍTULO 3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este capítulo se analizaron los resultados obtenidos experimentalmente para cada una de las variables de respuesta que se plantearon en cada objetivo.

A continuación se presentan los valores de las determinaciones de actividad de agua y pH para dar respuesta al objetivo particular 1, dichos parámetros se realizaron por triplicado en todos los tratamientos envasados al vacío y en refrigeración durante sus días de almacenamiento 0, 7 y 14. Los resultados fueron procesados en el programa Minitab 16.0.1, donde se realizó un análisis de varianza (ANOVA) unidireccional con un nivel de significancia del 5%, se utilizaron las gráficas de caja para observar el efecto de los diferentes tratamientos, el vacío y la refrigeración.

3.1 Actividad de agua (a_w)

En el cuadro 6 se muestra los valores promedio de actividad de agua de las placas de carne de res, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración.

Cuadro 6. Valores promedios de actividad de agua correspondiente a cada uno de los tratamientos

Día	Muestras	Concentración de lactatos	a_w promedio
0	M.P.	-	0.93±0.00
	Control	-	0.93±0.01
	Lactato de K	3%	0.93±0.01
	Lactato de Ca	3%	0.92±0.01
7	Control	-	0.93±0.00
	Lactato de K	3%	0.91±0.01
	Lactato de Ca	3%	0.90±0.01
14	Control	-	0.90±0.00
	Lactato de K	3%	0.89±0.01
	Lactato de Ca	3%	0.90±0.01

(Promedio ± Desviación estándar)

La actividad de agua es un factor intrínseco clave que expresa la cantidad de agua disponible de un alimento capaz de propiciar el crecimiento de microorganismos alterantes (Roberts, 1997). Fennema (2010) dice que mientras más alta sea la a_w y más se acerque a 1.0, que es la del agua pura, mayor será su susceptibilidad al ataque microbiano. Para su crecimiento, los microorganismos necesitan condiciones propicias de pH, de nutrientes, de oxígeno, de presión, de temperatura y actividad de agua.

Como se observa en la figura 22, estadísticamente no hay diferencias en el a_w de los diferentes tratamientos; los valores de actividad de agua de las muestras con lactato de potasio tuvieron una ligera disminución a los 14 días de almacenamiento, la muestra control mantuvo su a_w inicial durante una semana pero sin la aplicación de lactatos fue más susceptible al ataque microbiano. Cabe mencionar que la combinación de barreras empleadas que fueron el vacío y la refrigeración favoreció la inhibición del desarrollo de microorganismos alterantes.

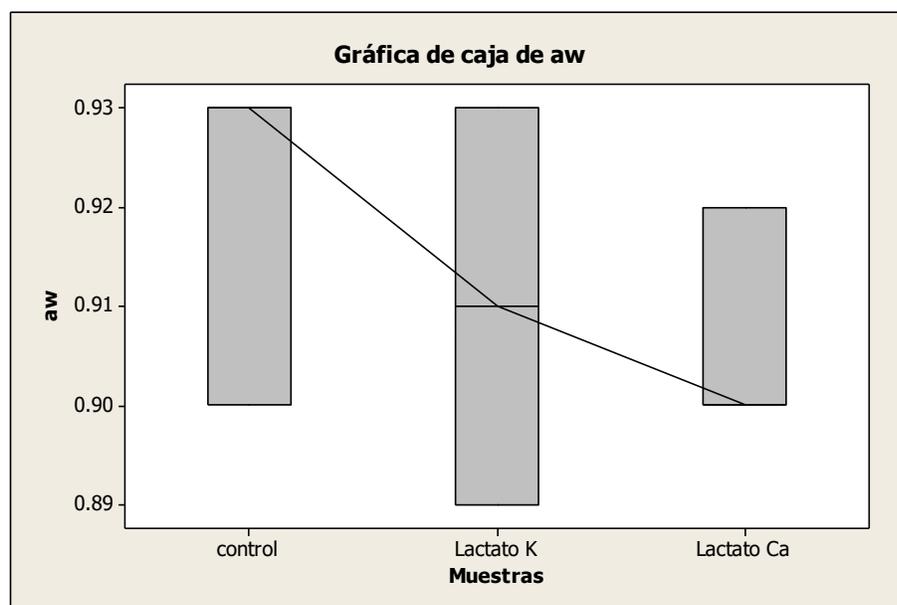


Figura 22. Gráfica de caja de actividad de agua de muestra control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasada al vacío y almacenada en refrigeración

3.2 pH

En el cuadro 7 se puede apreciar la variación del pH promedio de los diferentes tratamientos. El valor final de pH o pH último es un factor importante durante la transformación del músculo en carne, afecta las características organolépticas y tecnológicas de la carne (Ordoñez *et al.*, 1998). Kempster *et al.* (1982) señalan que un pH bajo, próximo al punto isoelectrico de las proteínas (escasas cargas que fijan al dipolo agua), nos dará carnes más claras, blandas (PSE) y con menor poder de retención de agua (CRA), de lo contrario generará carne oscura, firme y seca (DFD) y mayor capacidad de retención de agua. Mientras que Hwang *et al.*, (2001) señalan que se alcanzan menores valores de pH en carne envasada al vacío (atmósferas modificadas).

Cuadro 7. Valores promedios de pH correspondiente a cada uno de los tratamientos

Día	Muestras	Concentración de lactatos	pH promedio
0	M.P.	-	5.51±0.01
	Control	-	5.50±0.03
	Lactato de K	3%	5.35±0.01
	Lactato de Ca	3%	5.33±0.03
7	Control	-	5.03±0.01
	Lactato de K	3%	5.46±0.04
	Lactato de Ca	3%	5.05±0.02
14	Control	-	4.88±0.03
	Lactato de K	3%	5.27±0.01
	Lactato de Ca	3%	4.92±0.01

(Promedio ± Desviación estándar)

El vacío inhibió el crecimiento de microorganismos aerobios alterantes, mantuvo el pH de la carne y controló los procesos oxidativos. Ambos lactatos y la refrigeración fueron precursores para la obtención de carne oscura, firme y seca (DFD), la cual es recomendada para la elaboración de embutidos por la mayor capacidad de retención de agua debido a su pH lejano del pH isoeléctrico de las proteínas miofibrilares.

En la figura 23 se observa que estadísticamente no hay diferencias en el pH de los diferentes tratamientos, por lo tanto la aplicación de lactatos en combinación con las tecnologías de barreras (envasado al vacío y refrigeración) no tuvieron un notable efecto sobre el pH de los diferentes lotes durante 14 días; el pH de todos los lotes se mantuvo alejado del pH isoeléctrico de las proteínas cárnicas (pH=4.5), por lo general, a este pH las proteínas tienen su mínima solubilidad, debido a que la carga eléctrica neta de los polímeros es cero y en este caso la interacción proteína-proteína se favorece en mayor grado, alejado de éste se favorece la interacción proteína-agua, siendo los lactatos el principal aporte a la fuerza iónica de la carne, debilitando las uniones electrostáticas existentes entre los grupos COO^- y NH_4^+ , contribuyendo, por tanto, a la retención de agua.

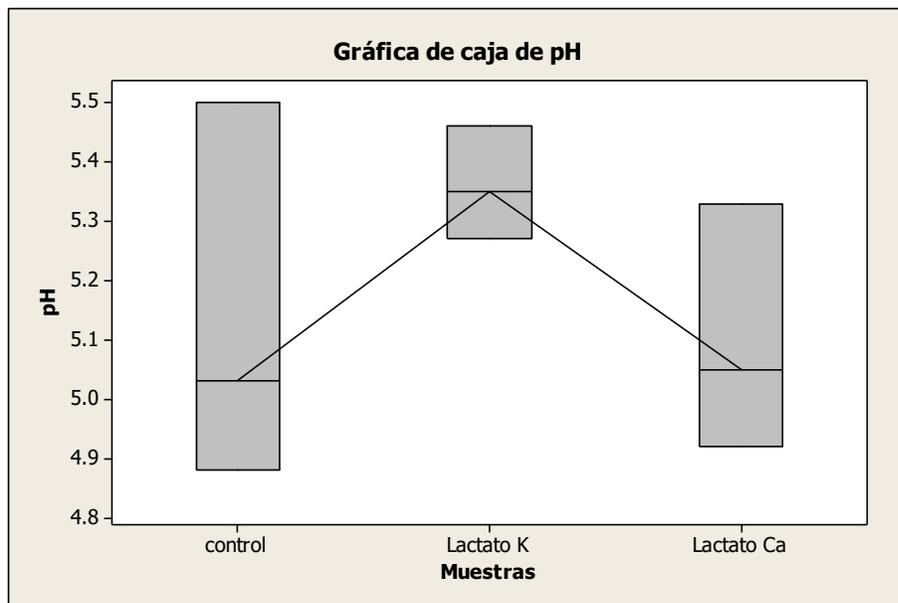


Figura 23. Gráfica de caja de pH de muestra control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasada al vacío y almacenada en refrigeración

A continuación se presentan los valores de las determinaciones de los parámetros de perfil de color para dar respuesta al objetivo particular 2, dichos parámetros se realizaron por triplicado en todos los tratamientos envasados al vacío y en refrigeración durante sus días de almacenamiento 0, 7 y 14. Los resultados fueron procesados en el programa Minitab 16.0.1, donde se realizó un análisis de varianza (ANOVA) unidireccional con un nivel de significancia del 5%, se utilizaron las gráficas de caja para observar el efecto de los diferentes tratamientos, el vacío y la refrigeración.

3.3 Color

En el cuadro 8 se muestran los valores promedio de L^* , a^* y b^* de carne de res envasada al vacío y almacenada en refrigeración. Para realizar esta medición fue necesario desenvasar y exponer la carne al aire, se produjo una oxigenación de la mioglobina (*blooming*) lo que dio como resultado la formación de oximioglobina.

Cuadro 8. Valores promedios de L*, a* y b* correspondiente a cada uno de los tratamientos

Día	Muestras	Concentración de lactatos	Color			ΔE^*
			L*	a*	b*	
0	Materia prima	-	38.14	19.19	12.62	-
	control	-	41.01	12.83	8.71	8.00
	Lactato de K	3%	42.81	13.04	8.21	8.89
	Lactato de Ca	3%	43.62	12.13	8.63	10.61
7	control	-	43.66	15.79	13.14	6.50
	Lactato de K	3%	44.81	12.43	10.10	9.83
	Lactato de Ca	3%	44.98	12.5	10.61	9.78
14	control	-	40.56	15.63	13.16	4.35
	Lactato de K	3%	35.75	12.15	9.67	8.01
	Lactato de Ca	3%	47.61	11.03	11.97	11.83

3.3.1 Parámetro L*

La figura 24 presenta los valores promedio del parámetro L* (luminosidad) que va de 0 (negro) a 100 (blanco) (Franco *et al.*, 2008). Cabe mencionar que estadísticamente no hay diferencias en esta coordenada si hay o no adición de lactato combinado con el envasado al vacío y almacenado en refrigeración. Andrés *et al.*, (2000) señalan que la concentración de mioglobina tiene un comportamiento inverso a la luminosidad, mientras que los fenómenos de repulsión que se producen entre las cargas negativas de las proteínas, puede dar lugar a una disminución de la luminosidad de la carne; se puede observar que el lote con lactato de calcio presentó mayor luminosidad con valores L* en un intervalo de 43.62 a 47.61 por lo que redujo la concentración de mioglobina superficial en la carne, el lote con lactato de potasio mantuvo una luminosidad baja con valores de L* de 44.81 a 35.75 por lo que fue el lote con mayor concentración de oximioglobina (color rojo) en su superficie, en todos los lotes al abrir el empaque, se observó que el vacío favoreció la producción de metamioglobina (color rojo pardo), pero después de oxigenarse la metamioglobina (Fe³⁺) se redujo y se formó oximioglobina (Fe²⁺), hubo una ligera disminución de la concentración de oximioglobina superficial conforme pasaron los días de almacenamiento (figura 28). Los resultados obtenidos son parecidos entre sí, por ello se puede decir que estadísticamente son iguales, esto probablemente se puede deber a la capacidad reversible que tiene el grupo *hemo* de la mioglobina de reducirse en presencia de oxígeno u oxidarse en su ausencia, así como el tiempo y la temperatura a la que se llevó cada una de estas reacciones, todo esto se controló durante el *blooming*, ya que se realizó a temperatura de

refrigeración a la cual es más estable la mioglobina y durante 30min, teniendo un comportamiento similar en los diferentes lotes.

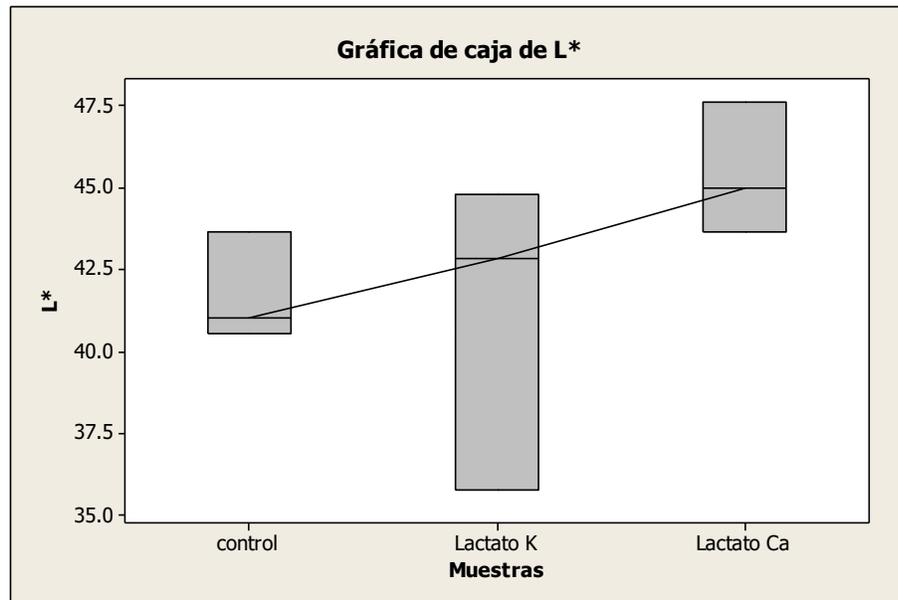


Figura 24. Gráfica de caja de luminosidad (L^*) de carne control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración

3.3.2 Parámetro a^*

En la figura 25 se observa que entre la muestra control y lactato de potasio estadísticamente no hay diferencias en la coordenada a^* , pero entre el lactato de calcio y la muestra control si existen cambios importantes en a^* indicando una posible reducción en la concentración de mioglobina. De acuerdo con Fernández *et al.*, (2000) a mayor valor de a^* mayor es la concentración de mioglobina superficial; el lactato de calcio disminuyó la concentración de mioglobina superficial de la carne de res al obtener valores de a^* bajos, esto posiblemente se debió a la mayor electronegatividad que posee el catión calcio para interactuar con aniones de manera electrostática modificando a su vez el volumen de las proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas, afectando a su vez la dispersión de la luz. En cuanto a la muestra control y lactato de potasio los valores del parámetro a^* fueron altos, con ello se puede decir que el lactato de potasio, el vacío y la refrigeración no afectaron a las proteínas sarcoplásmicas responsables del color rojo de la carne.

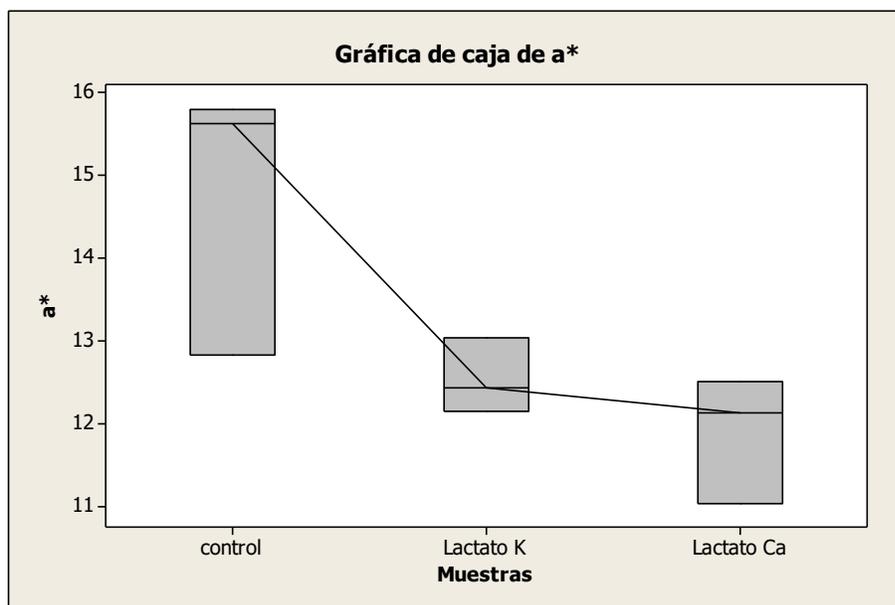


Figura 25. Gráfica de caja de parámetro a^* de la muestra control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración

3.3.3 Parámetro b^*

En la figura 26 se observa que entre los diferentes tratamientos estadísticamente no hay diferencias en la coordenada b^* (b^+ amarillo, b^- azul) con la adición o no de sales orgánicas durante la primera semana de almacenamiento. Serra *et al.*, (2007) sugiere que la formación de pigmentos amarillos en la carne se debe a las reacciones de pardeamiento no enzimático entre los productos de oxidación de lípidos y la amina en la proteína; la muestra control exhibió valores mayores de b^* a la segunda semana de almacenamiento, a comparación de la carne con lactato de potasio y lactato de calcio, lo cual indica que los procesos bioquímicos propios de la carne durante su maduración, se controlaron con el uso de las sales de ácidos orgánicos, con baja temperatura de almacenamiento y con el envasado al vacío. Indicando así que la coordenada b^* en todos los lotes tiende a amarillo porque los valores obtenidos son mayores a cero.

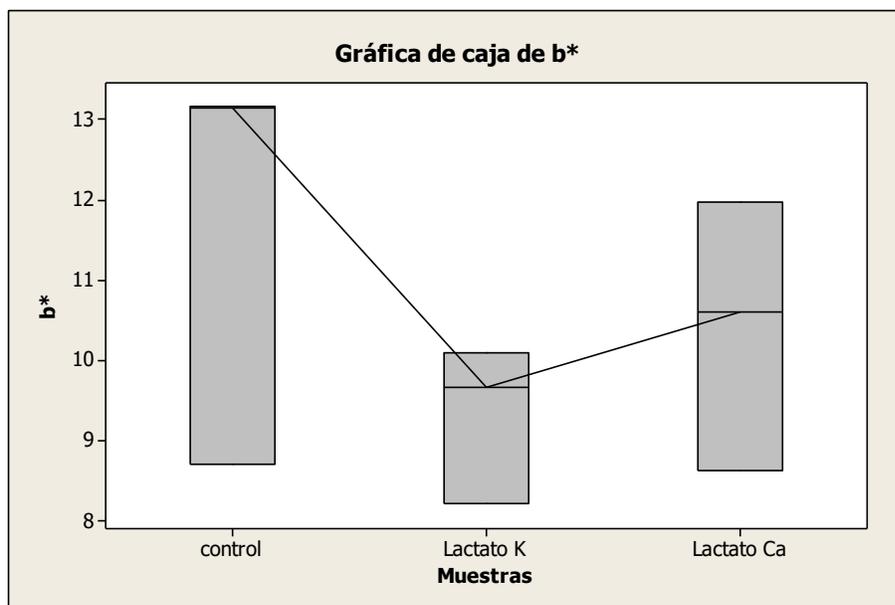


Figura 26. Gráfica de caja de parámetro b^* de la muestra control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración

3.3.4 Parámetro ΔE^*

La apariencia de la carne es un factor principal por el que los consumidores juzgan su aceptabilidad, según consideran estudios de consumo (Arnau *et al.*, 2008). Los cambios de color totales (ΔE^*) se muestran en la figura 28, de acuerdo con la CIE, el máximo permitido es un valor de 5 para poder decir que las muestras tienen prácticamente el mismo color, que hay diferencias perceptibles pero aceptables, indicando a su vez que los cambios de color son percibidos en ΔE^* superiores a 5, caso contrario, valores inferiores a 5 son cambios no perceptibles por la vista humana. De acuerdo a los resultados y tomando como referencia a la carne recién obtenida sin aplicación de algún tratamiento o tecnología, se tiene que los cambios totales de color (ΔE^*) no son estadísticamente diferentes entre la muestra control y el lactato de potasio, y entre los mismos lactatos, pero sí existen diferencias estadísticas importantes entre la muestra control y el lactato de calcio; los cambios de la muestra control fueron percibidos a simple vista (figura 27) a la primera semana de almacenamiento con valores de ΔE^* mayores a 6. Sin embargo, los cambios de color en la carne de res con lactatos si son visibles desde el día inicial hasta el día 14 con valores de ΔE^* de 8.01 a 11.83. El tratamiento con lactato de calcio fue el que presentó cambios notables en la tonalidad del color de la carne al presentar mayor concentración de

metamioglobina, por lo que dio origen a carnes *pálidas, suaves y exudativas (PSE)*, el lactato de potasio por lo contrario originó carnes *oscuras, firmes y secas (DFD)*.

Día 0:

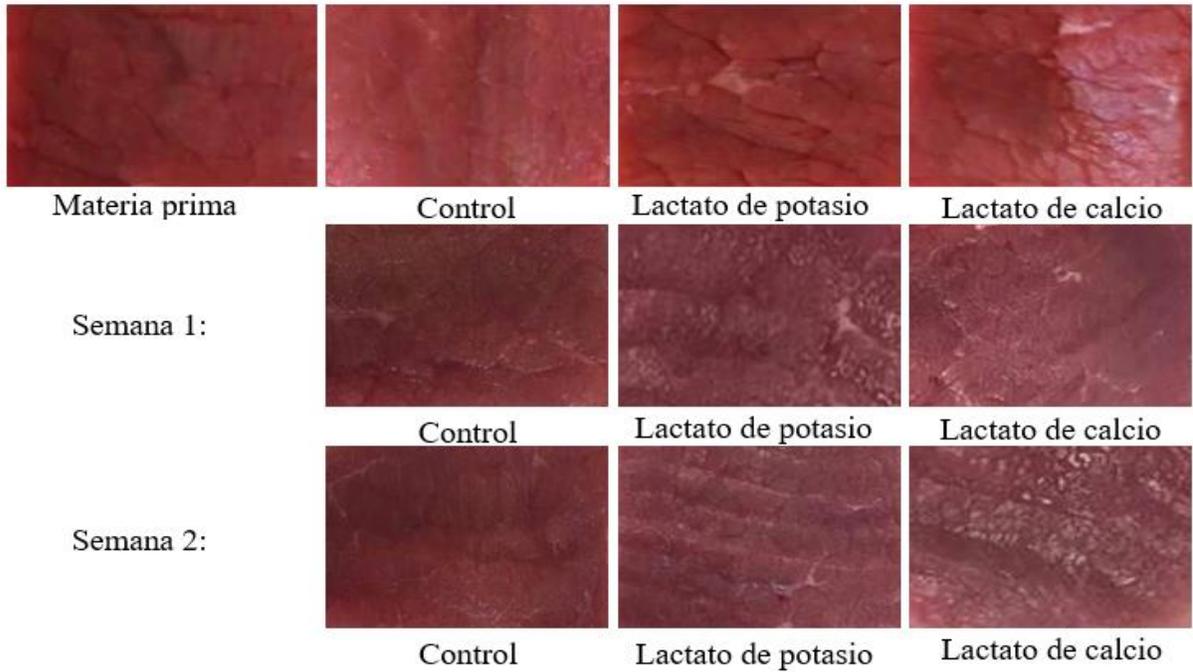


Figura 27. Imágenes del cambio de color en la carne de res con y sin lactato, envasada al vacío y almacenada en refrigeración a 4°C

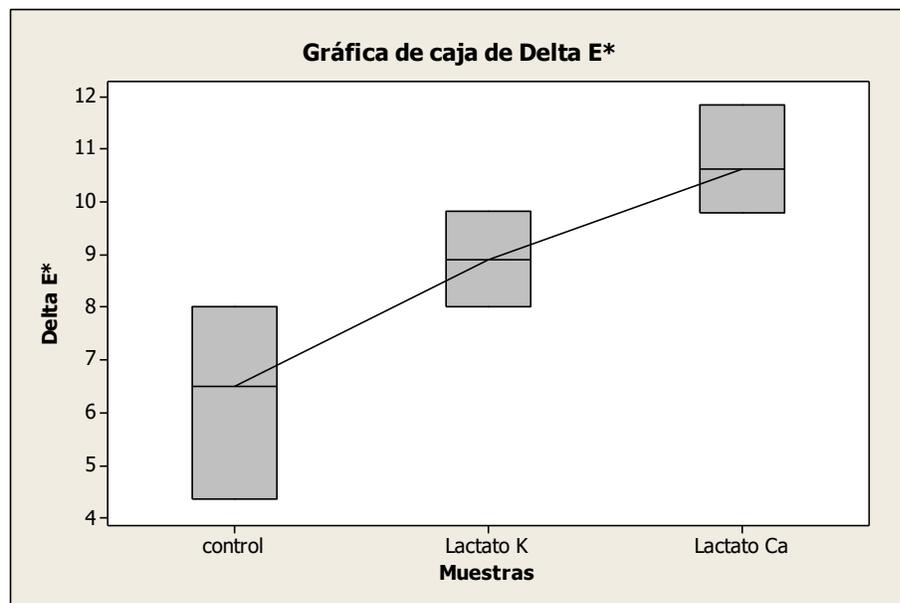


Figura 28. Gráfica de caja de cambio de color de la muestra control, con lactato de potasio y lactato de calcio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración a 4°C

3.3.5 Reflectancia

Dentro de las determinaciones de los parámetros de color se obtuvieron también las curvas espectrales de las muestras, lo que indica con base en las longitudes de onda que van de 400 a 700nm, el comportamiento de la luz reflejada sobre la carne con diferentes tratamientos. La mioglobina y sus derivados son los principales responsables de la absorbancia selectiva de las carnes rojas, si bien, los diferentes estados químicos del pigmento tienen curvas de reflexión y absorción diferentes. Dentro del espectro visible, los pigmentos *hemínicos* se hallan caracterizados por una banda intensa de absorción entre 410 y 430nm. La mioglobina reducida tiene una absorción máxima a 555nm; la oximioglobina (rojo vivo) presenta un espectro con 2 picos de absorción típicos de los complejos *hemínicos* covalentes, y por último la metamioglobina (color rojo pardo) tiene su máxima absorción a 505 y 630nm (Hunt *et al.*, 2012).

En las siguientes figuras (29, 30 y 31), se puede observar como dentro de un intervalo de 480 a 580nm, los 2 picos de absorción de los complejos *hemínicos* que señalan Hunt *et al.*, 2012, se encuentran en todas las curvas de reflectancia tanto en la materia prima, control, carne con lactato de potasio y carne con lactato de calcio. Se observó que para todos los tratamientos durante el día inicial (figura 29) presentaron el mismo perfil en cuanto al espectro de reflectancia, lo que indica que las muestras aparentemente no presentan diferencias entre sí, por lo que su tonalidad es igual durante la reflexión de la luz.

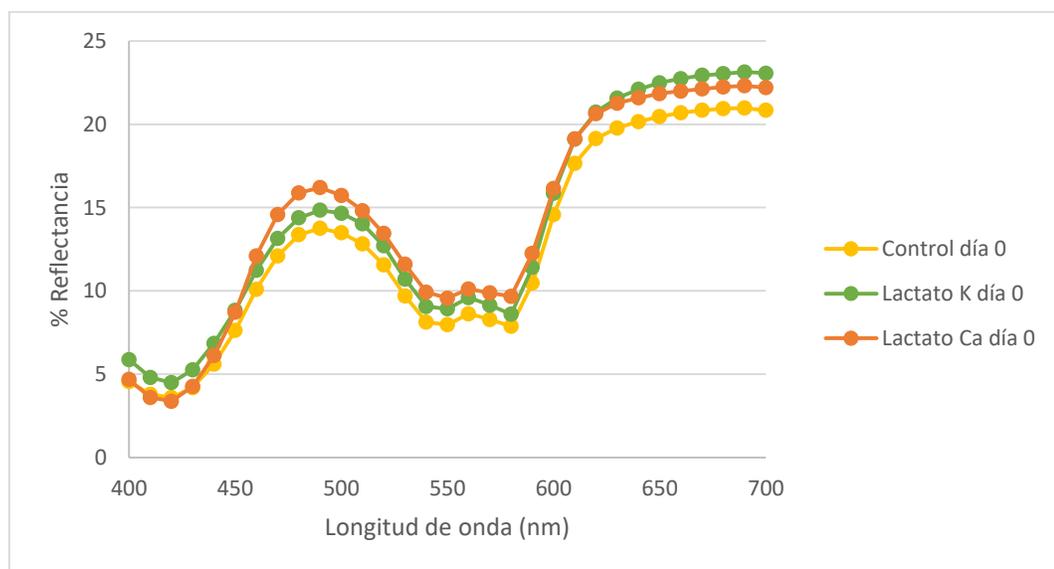


Figura 29. Porcentaje de reflectancia de muestra control, lactato de potasio y lactato de calcio envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración al día inicial

Durante la primera semana (figura 30) se observa un comportamiento similar en cuanto al espectro de reflectancia, lo cual indica de igual forma que el día inicial que las muestras aparentemente no presentan diferencias entre sí, por lo que su tonalidad es igual durante la reflexión de la luz; por lo que la aplicación de lactatos no tuvo interacción química con la oximioglobina siendo el estado de la mioglobina que predominó en los diferentes lotes.

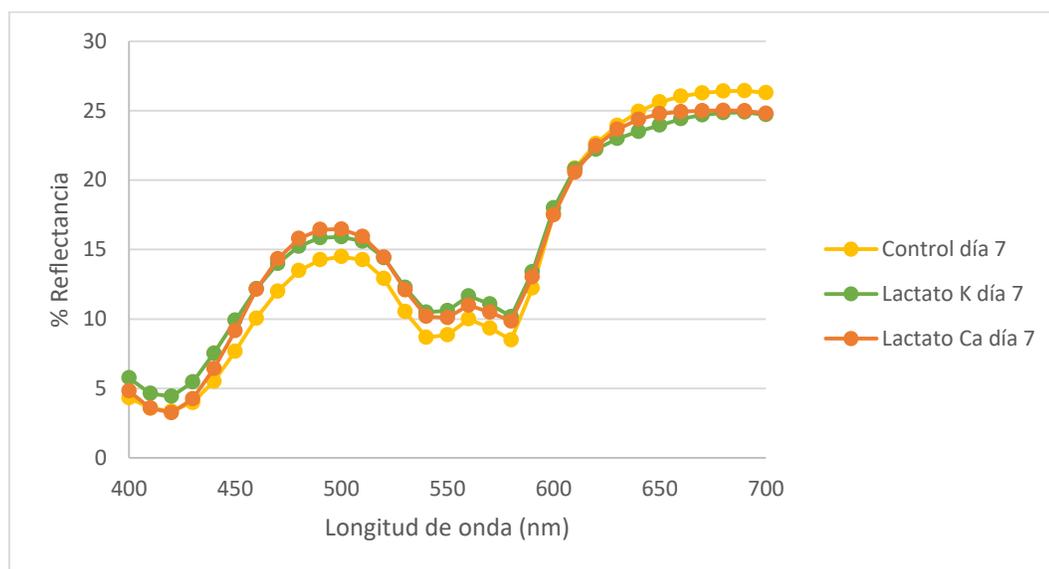


Figura 30. Porcentaje de reflectancia de muestra control, lactato de potasio y lactato de calcio envasadas al vacío y almacenadas durante una semana en refrigeración

En la figura 31 se puede observar notablemente como varían el porcentaje de reflectancia entre los diferentes tratamientos a la segunda semana de almacenamiento, la muestra con lactato de calcio aumentó su porcentaje de reflectancia hasta un 19% y con ello aumentaron los líquidos exudados lo que la caracterizó como una carne *pálida, suave y exudativa (PSE)*, resultando como consecuencia de los cambios en la tonalidad del color evaluado con una luminosidad alta de 47.61 y baja de a^* igual a 11.03, mientras que la muestra control y lactato de potasio disminuyeron hasta una reflectancia de 10 y 6% respectivamente, disminuyendo a su vez los líquidos exudados, característica de carnes *oscuras, firmes y secas (DFD)* por su mayor capacidad de retención de agua (ver figura 28).

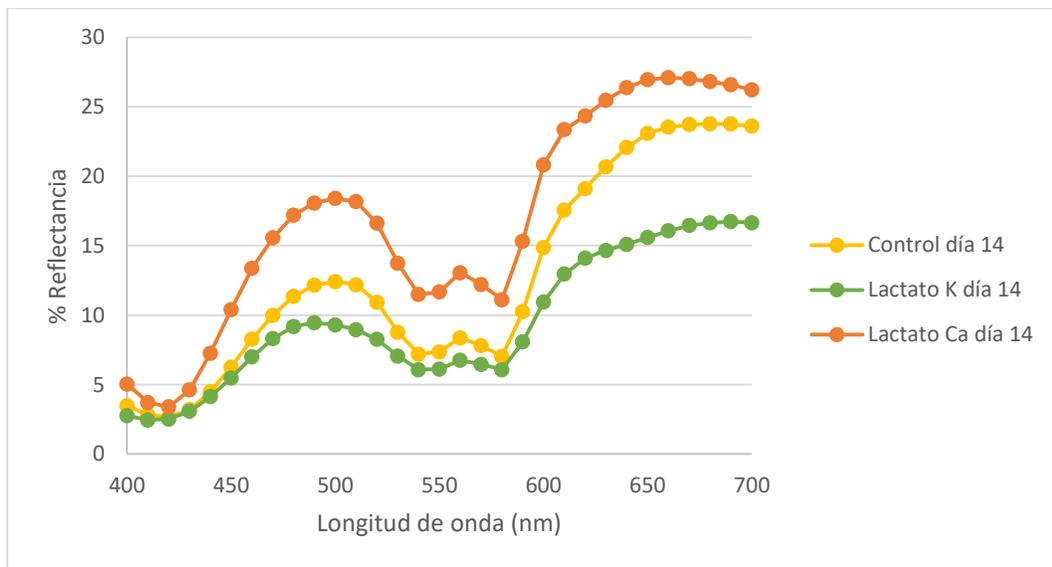


Figura 31. Porcentaje de reflectancia de muestra control, lactato de potasio y lactato de calcio envasadas al vacío y almacenadas durante dos semana en refrigeración

A continuación se presentan los valores de las determinaciones de la cuantificación en placa de bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales para dar respuesta al objetivo particular 3, dichos parámetros se realizaron por duplicado en la muestra control y todos los tratamientos envasados al vacío y en refrigeración durante sus días de almacenamiento 0, 7 y 14. Se presentan las gráficas de los logaritmos de UFC/g obtenidas en los análisis microbiológicos realizados por norma y cuenta en placa en superficie, en carne de res, para el conteo de mesófilos aerobios se utilizó el agar triptona-extracto de levadura (para cuenta estándar) y para coliformes totales el agar bilis rojo violeta.

3.4 Mesófilos aerobios y coliformes totales

En el cuadro 9 se muestran los valores de las unidades formadoras de colonias por gramo de bacterias mesófilas aerobias presentes en la carne sin ningún tratamiento, dato de referencia que fue necesario para discutir con los valores obtenidos con los diferentes tratamientos. Estas placas presentaron cuentas de menos de 25 colonias por lo que se calculó el “valor estimado” de cuenta en placa, la materia prima tuvo 25,000 UFC/g de bacterias aerobias en placa en agar triptona extracto de levadura, incubadas 48 horas a 35°C, siendo 150,000 UFC/g el límite máximo permisible de bacterias mesófilas aerobias que pueden estar presente en carne fresca con buena calidad sanitaria, según la NOM-034-SSA1-1993.

Cuadro 9. Valor estimado de la cuenta en placa de mesófilos aerobios en materia prima (ensayo por duplicado)

Muestra	Tiempo (horas)	Dilución	Promedio de núm. de colonias	UFC/g (Promedio)
Materia prima	24	1:100000	2.5	25,000
	48			

En el cuadro 10 se presenta el promedio del valor de la cuenta en placa de coliformes totales presentes en la carne sin tratamiento previo, para ello se utilizó un medio selectivo (agar bilis rojo violeta) en el cual se desarrollan las bacterias a 35°C en aproximadamente 24 horas, dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos, los cuales provocaron que virará el indicador de pH, precipitando las sales biliares. La materia prima tuvo 10,000 UFC/g de coliformes totales en placa en agar bilis rojo violeta, incubadas 48 horas a 35°C, lo que indicó que no se cumplieron las buenas prácticas de sanidad e higiene en el faenado, siendo <10 UFC/g el límite microbiológico básico de coliformes totales que pueden estar presente en carne fresca con buena calidad sanitaria, según la NOM-251-SSA1-2009.

Cuadro 10. Valores de la cuenta en placa de coliformes totales en materia prima (ensayo por duplicado)

Muestra	Tiempo (horas)	Dilución	Promedio de núm. de colonias	UFC/g (Promedio)
Materia prima	24	1:100000	1	10000
	48			

Los resultados de las cuentas de coliformes totales (cuadro 10) y mesófilos aerobios (cuadro 11) como indicadores sanitarios reflejaron la calidad sanitaria de la carne de res empleada en este proyecto para evaluar el efecto de la combinación de algunas condiciones barrera y su impacto en la vida útil, y se confirmó la importancia del uso de lactatos combinados con vacío y refrigeración, para el control del crecimiento de la carga microbiana inicial en carne de res, las sales de ácidos orgánicos reducen la carga bacteriana superficial antes de someterla a un procesamiento (Leistner *et al.*, 2002). Conforme aumentó el tiempo de almacenamiento, las muestras control tanto las muestras con tratamiento disminuyeron las unidades formadoras de

colonias por gramo de muestra. El lote con lactato de potasio tuvo un mejor efecto antimicrobiano al controlar el crecimiento de bacterias mesófilas aerobias logrando la reducción de 25,000 UFC/g (valor de referencia) a 450 UFC/g durante la semana 1, seguido del lactato de calcio que tuvo 3,000 UFC/g y por último la muestra control que exhibió 4,300 UFC/g ambos a la semana 2.

Cuadro 11. UFC/g de la cuenta en placa de bacterias mesófilas aerobias de los diferentes tratamientos (ensayo por duplicado)

Día	Muestra	Tiempo (horas)	Dilución	Promedio de núm. de colonias	UFC/g (Promedio)
0	Control	24	1:1000	81.5	8150
		48			
7		24	1:1000	68.5	6850
14		24	1:1000	43	4300
0	Lactato de potasio	24	1:1000	36	3600
		48			
7		24	1:100	45	450
14		24	1:100	61	610
0	Lactato de calcio	24	1:1000	71	7100
		48			
7		24	1:1000	60	6000
14		24	1:1000	30	3000

En cuanto a las UFC/g de coliformes totales, el lote con lactato de calcio tuvo un mejor efecto antimicrobiano al controlar el crecimiento de coliformes totales logrando la reducción de 4 log de UFC/g (valor de referencia) a 2 log UFC/g durante la semana 2, seguido del lactato de potasio y

la muestra control que exhibieron 6 UFC/g a la semana 2. Los lactatos y las tecnologías de barrera mejoraron la calidad sanitaria inicial al inhibir el crecimiento de microorganismo alterantes presentes en la carne, lograron la obtención de carne con UFC/g de coliformes por debajo del límite mínimo <10 UFC/g, efecto que puede prolongar el tiempo de vida útil de la carne almacenada en refrigeración hasta más de 14 días.

Cuadro 12. UFC/g de la cuenta en placa de coliformes totales de los diferentes tratamientos (ensayo por duplicado)

Día	Muestra	Tiempo (horas)	Dilución	Promedio de núm. de colonias	UFC/g (Promedio)
0	Control	24	1:100	16	160
		48			
7		24	1:10	15.5	16
14		24	1:10	5.5	6
0	Lactato de potasio	24	1:100	18.5	185
		48			
7		24	1:10	7.5	7.5
14		24	1:10	6	6
0	Lactato de calcio	24	1:100	3	30
		48			
7		24	1:10	16	16
14		24	1:10	2	2

En la figura 32, se presentan los logaritmos de unidades formadoras de colonias sobre gramo de bacterias mesófilas aerobias de los diferentes tratamientos. La materia prima como valor de referencia presentó 4 log UFC/g (2.50×10^4 UFC/g) de bacterias mesófilas aerobias, el vacío

sometió a la muestra a condiciones libre de oxígeno (lote control) por lo que redujo 1 log de UFC/g al igual que el lactato de calcio, ambos presentaron 3 log UFC/g durante el día inicial y a la primera semana; en el caso de las muestras con lactato de potasio a partir del día 7 las cuentas disminuyeron hasta 2 log UFC/g lo que demostró que el vacío en combinación con los lactatos inhiben el crecimiento de bacterias aerobias, las cuales pueden ser alterantes para la carne como es el caso de las BAL.

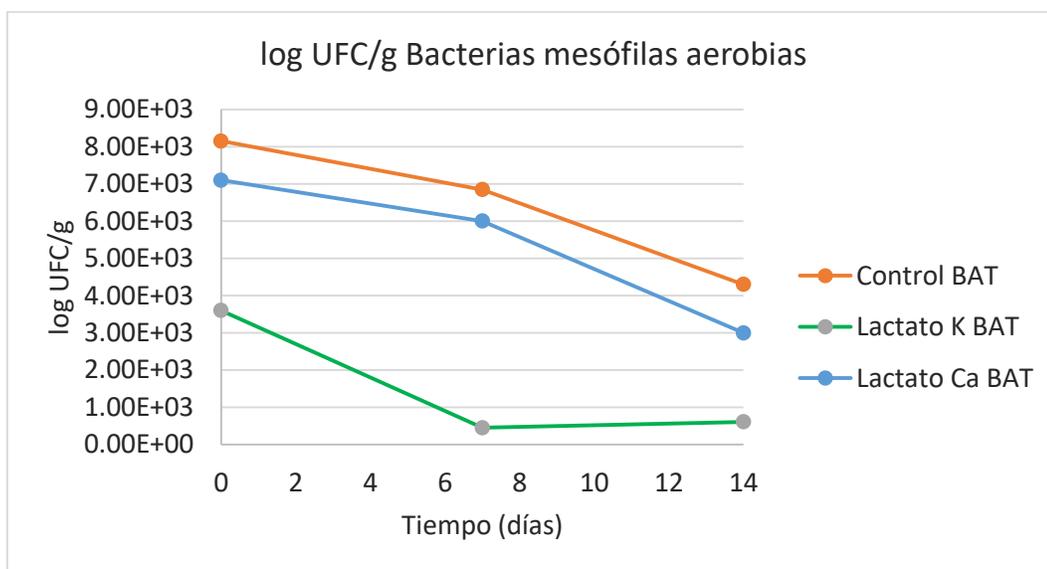


Figura 32. Conteo de las colonias de bacterias mesófilas aerobias en la muestra control, muestra con lactato de potasio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración

López *et al.*, (2008) reportaron que los lactatos disminuyeron la concentración bacteriana de coliformes y *Staphylococcus aureus* hasta 4.2 log UFC/g de bacterias mesófilas y 2 log UFC/g de coliformes, en carne de res almacenada en refrigeración, observando un efecto bacteriostático. En la figuras 33, se presentan los logaritmos de unidades formadoras de colonias sobre gramo de coliformes totales de los diferentes tratamientos; considerando que la materia prima presentó 4 log UFC/g (10,000 UFC/g), el lote con mejor efecto bacteriostático para este indicador sanitario fue la muestra con lactato de calcio al inhibir el crecimiento de 3 log de UFC/g ya que exhibió sólo 30 UFC/g al inicio, mientras que la muestra control y la muestra con lactato de potasio tuvieron una disminución de 2 logaritmos de UFC/g al presentar sólo 160 y 185 UFC/g respectivamente al día inicial. A la semana 2 todos los tratamientos controlaron el crecimiento de coliformes reduciendo los 4 log UFC/g. La temperatura de refrigeración de 4°C jugó un papel importante en el desarrollo de los microorganismos favoreciendo el control del crecimiento de

bacterias alterantes como son los coliformes, y con ello se logra prolongar el tiempo de vida útil de un alimento perecedero, como es el caso de la carne.

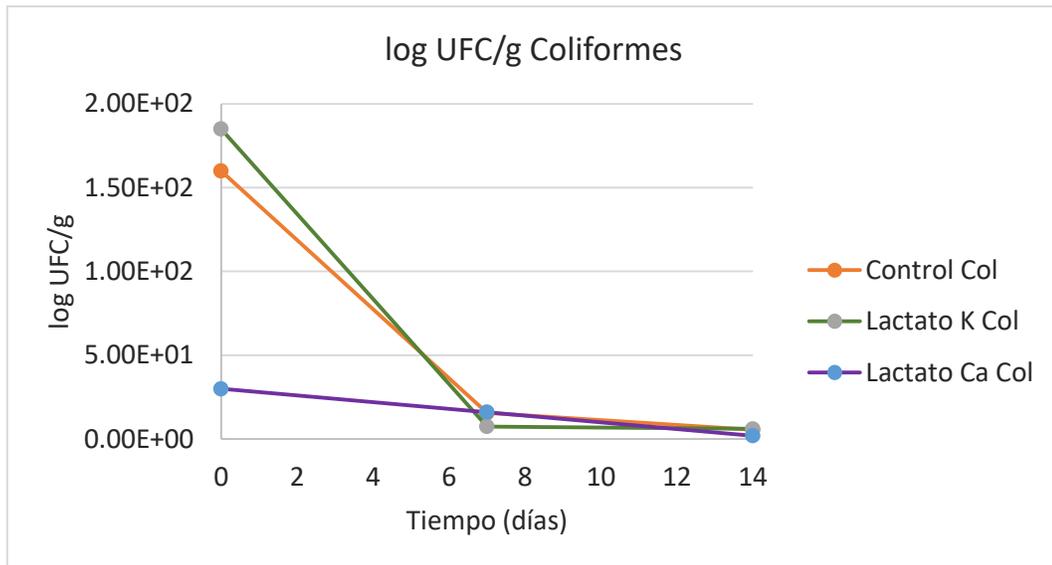


Figura 33. Conteo de las colonias de coliformes totales en la muestra control, muestra con lactato de potasio y con lactato de calcio, envasadas al vacío y almacenadas en refrigeración

3.4.1 Tinción de Gram

Se realizó una tinción diferencial de aquellas colonias más representativas presentes en los diferentes lotes, para la identificación el tipo de bacterias presentes, aportando información útil para orientar el efecto del tratamiento utilizado sobre las bacterias Gram positivas y Gram negativas.

En la figura 34 se pueden observar colonias que a la tinción de Gram resultaron Gram positivas y Gram negativas en la carne de res (materia prima). *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*, *Enterobacter* y *Escherichia* son los posibles géneros bacterianos que pueden estar presentes. De estos microorganismos algunos se podrían considerar como microbiota nativa o intrínseca de la carne, mientras que los géneros de enterobacterias se pueden considerar como contaminantes (Gill, 1979). Cabe mencionar que las porciones internas de los tejidos sanos del animal vivo son estériles o contienen una carga microbiana muy baja y la contaminación importante es de origen externo y se produce durante la sangría, faenado y ulterior tratamiento.

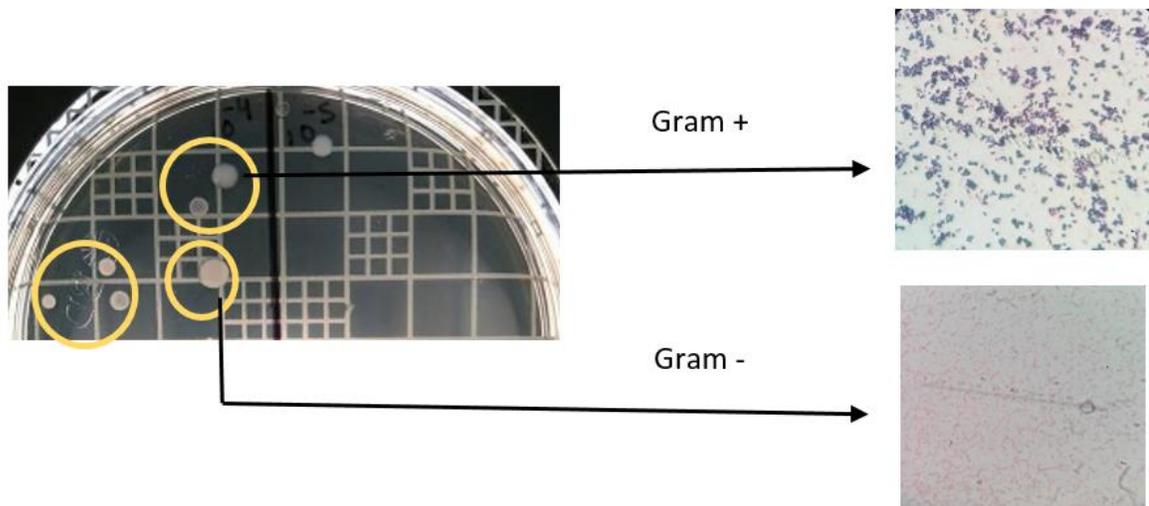


Figura 34. Colonia y morfología de bacterias mesófilas aerobias presentes en materia prima

La figura 35 muestra una placa de triptona-extracto de levadura y el crecimiento de las colonias de bacterias mesófilas aerobias presentes en la muestra control, así como la morfología de la colonia seleccionada para realizar tinción de Gram; los bacilos y cocos Gram positivos fueron los que predominaron en dicha muestra por lo que *Staphylococcus* y *Streptococcus* son los posibles géneros bacterianos que pueden estar presentes.

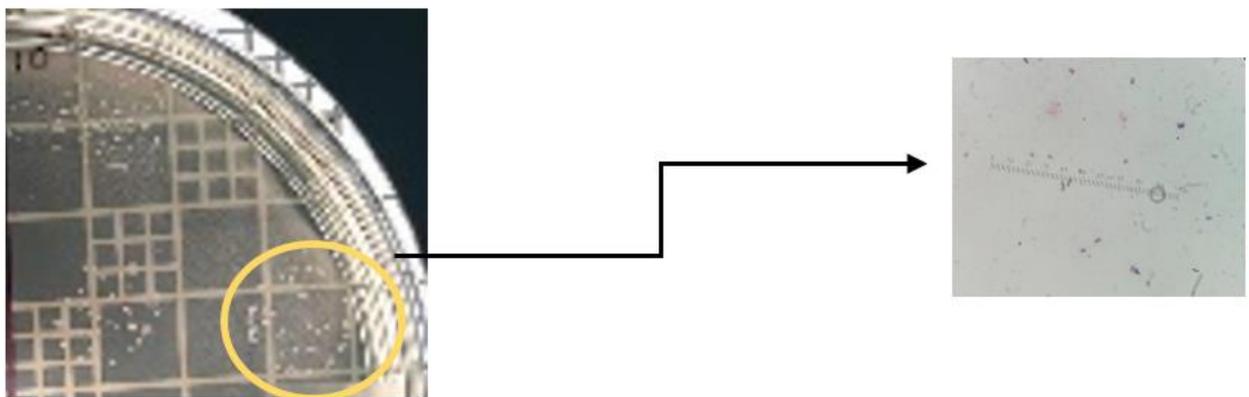


Figura 35. Colonia y morfología de bacterias mesófilas aerobias presentes en la muestra control

La figura 36 muestra una placa de agar bilis rojo violeta y el crecimiento de colonias rojas mucoides de coliformes, presentes en la muestra control, así como la morfología de la colonia

seleccionada para realizar tinción de Gram; los diplococos y cocos en racimos Gram negativos fueron los predominaron en dicha muestra, posiblemente había presencia de *Enterobacterias*.

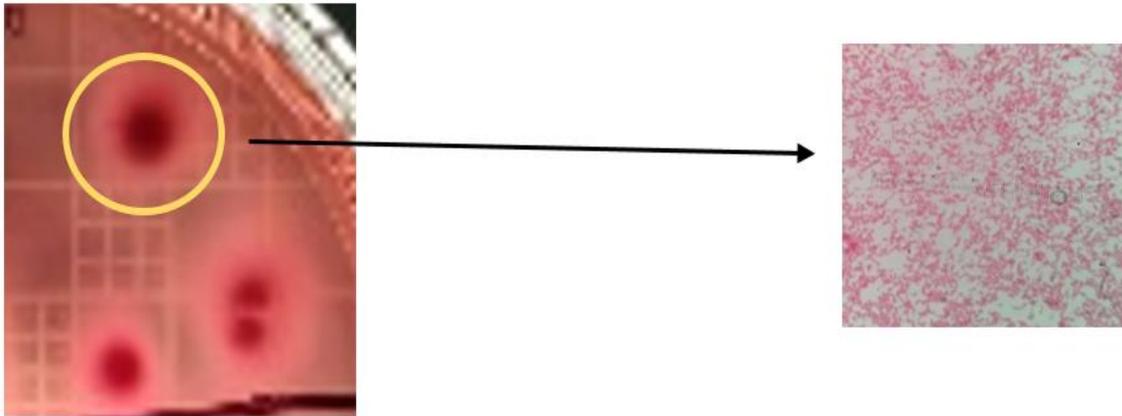


Figura 36. Colonia y morfología de coliformes presentes en la muestra control

La figura 37 muestra una placa de triptona-extracto de levadura y el crecimiento de las colonias de bacterias mesófilas aerobias presentes en la muestra con lactato de potasio, así como la morfología de la colonia seleccionada para realizar tinción de Gram; los cocos Gram positivos fueron los que predominaron en dicha muestra, característica de bacterias ácido lácticas.

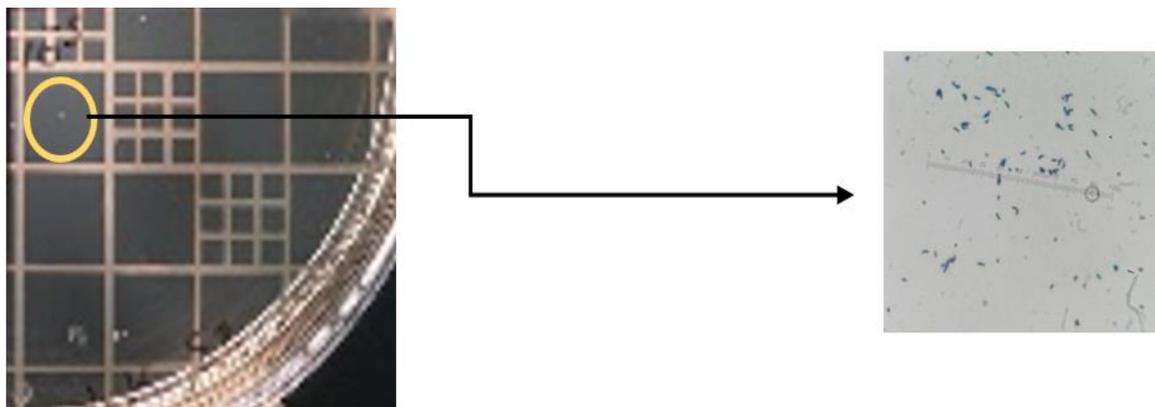


Figura 37. Colonia y morfología de bacterias mesófilas aerobias presentes en la muestra con lactato de potasio

La figura 38 muestra una placa de triptona-extracto de levadura y el crecimiento de las colonias de bacterias mesófilas aerobias presentes en la muestra con lactato de calcio, así como la morfología de la colonia seleccionada para realizar tinción de Gram; los cocos y cocos en cadena Gram positivos predominaron en dicha muestra, por la posible presencia de *Staphylococcus*.



Figura 38. Colonia y Morfología de bacterias mesófilas aerobias presentes en la muestra con lactato de calcio

En la figura 39, se muestran las placas de agar bilis rojo violeta y extracto de levadura sin crecimiento de coliformes totales y mesófilos aerobios, de carne de res envasada al vacío y almacenada en refrigeración durante 14 días. Se observó que ambos lactatos, tanto el de potasio como el de calcio, poseen un efecto bacteriostático sobre las bacterias Gram negativas, por lo que su adición permitió mejorar la calidad de la carne de res.

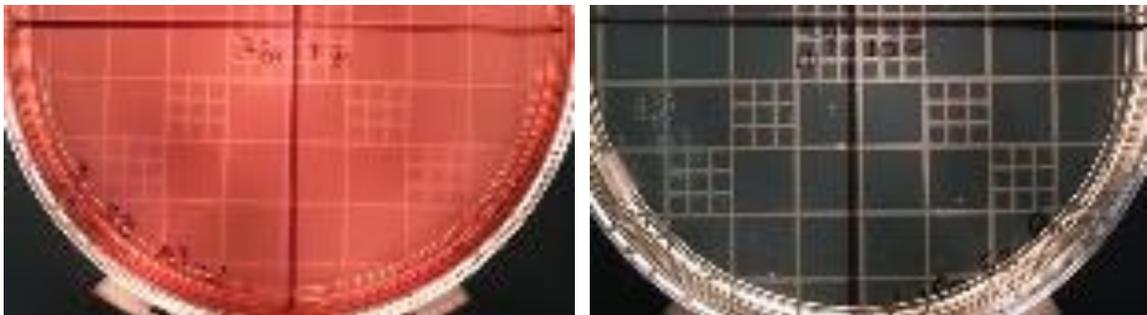


Figura 39. Placas de agar bilis rojo violeta y agar triptona extracto de levadura.

CONCLUSIONES

1. El valor de actividad de agua (a_w) y pH en la carne no presentaron cambios significativos ($P>0.05$) entre los diferentes tratamientos y las muestras control, por lo que estadísticamente no hay diferencias en estos parámetros con la adición o no de lactatos en combinación con un envasado al vacío durante 14 días de almacenamiento en refrigeración. Al mantenerse constantes ambos parámetros permitieron el control del desarrollo de microorganismos deteriorantes presentes en la carne de res, un aumento en la actividad de agua y una disminución del pH hubiera propiciado un medio idóneo para el desarrollo de bacterias Gram negativas (Enterobacterias).
2. La aplicación de lactato de potasio, envasado al vacío y almacenamiento a temperatura de 4°C, no presentaron cambios significativos ($P>0.05$) sobre los parámetros de perfil de color L^* , a^* y b^* , se propició la formación de metamioglobina, especie química de la mioglobina desarrollada a bajas tensiones de oxígeno, característica principal de carnes oscuras, firmes y secas (*DFD*), mientras que la aplicación de lactato de calcio en combinación con las tecnologías empleadas presentaron cambios significativos ($P<0.05$) sobre L^* , a^* y la reflectancia, originando carnes más pálidas.
3. El uso de lactato de potasio en carne de res, en combinación con el envasado al vacío y almacenamiento a temperatura de 4°C, permitió la reducción de 4 log UFC/g de bacterias mesófilas aerobias en la primera semana y 4 log UFC/g de coliformes en la segunda semana, por lo que presentó mejor efecto bacteriostático sobre las bacterias Gram negativas.
4. El uso de lactato de calcio en carne de res en combinación con envasado al vacío y almacenamiento a temperatura de 4°C, permitió la reducción de 1 log UFC/g de bacterias mesófilas aerobias, mientras que los coliformes fueron inhibidos completamente a partir del día 0, por lo que presentó mejor efecto sobre de las bacterias Gram negativas, muchas de ellas responsables del deterioro de la carne, especialmente las Enterobacterias.

BIBLIOGRAFÍA

- Albertí, P., Sañudo, C., Santolaria, P., Negueruela, Y., Olleta, J. L., Mamaqui, E., Campo, M. M., & Álvarez, F. S. (1995). Calidad de la carne de terneros de raza parda alpina y pirenaica cebados con pienso rico en alimentación con gluten y mandioca. VI Jornadas sobre Producción Animal. Revista de Información Técnica Económica y Agraria, 630-632.
- Andrés, A. I., Ruiz, J., Mayoral, A. I., Tejeda, J. F., & Cava, R. (2000). Influence of rearing conditions and crossbreeding on muscle color in Iberian pigs Influencia de las condiciones de crianza y del cruce en el color de los músculos de cerdos Ibéricos. Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, 6(4), 315-321.
- Apple, J. K., Dikeman, M. E., Minton, J.E., McMurphy, R. M., Fedde, M.R., Leith, D. E. & Unruh, J. A. (1995). Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and incidence of dark-cutting longissimus muscle of sheep. Journal of Animal Science 73: 2295-2307
- Arnau, J. G., Gou, B. P., Monfort, J. M., Martínez, S. P., Molina G. A., Otero G. L., & Masoliver T. P. (2008). Procedimiento para la protección y estabilización del color de carnes y productos elaborados de carne, frescos, marinados o parcialmente deshidratados, tratados por alta presión.
- Ashbolt, N.J., Grabow, W.O.K. & Snozzi, M. (2001). Indicators of microbial water quality. In Fewtrell, L. and Bartram, J. (Ed.), Water Quality: Guidelines, Standards and Health. Risk assessment and management for water-related infectious disease. IWA Publishing, London.
- Badui, D. S., Valdés M. S. E., & Cejudo G. H. (2006). *Química de los alimentos*. México: Pearson educación, pág 716.
- Bamforth, C. S. (2005). Alimentos, fermentación y microorganismos. Editorial Acribia S. A. Zaragoza, España.
- Cañeque, V. C., & Sañudo, C. J. (2000). Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. Instituto Nacional Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria.
- Cibils, F., García P. J.L. & Stirling, H. (1994). Evaluación de los criterios de clasificación de corderos gordos pre y post-mortem. Tesis de Ingeniería Agrícola p 79. Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Agronomía. Consultado:

[http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/02_17_31_4a1._carne_4a_\(1_a_39\).pdf](http://www.uco.es/zootecniaygestion/img/pictorex/02_17_31_4a1._carne_4a_(1_a_39).pdf)

- Delgado P. V. L., & Quartino C. L. (2013). Evaluación de la calidad microbiológica de cortes bovinos envasados al vacío y mantenidos a temperatura de refrigeración.
- Ercolini, D., Ferrocino, I., Nasi, A., Ndagijimana, M., Vernocchi, P., La Stora, A., Laghi, L., Mauriello, G., Guerzoni, M. E., & Villani, F., (2011). Monitoring of microbial metabolites and bacterial diversity in beef stored in different packaging conditions. *Food Microbiology*, 77, 7372–7381.
- FAO, (2007). División de Producción y Sanidad Animal. Base de datos FAO/INFOODS de composición de alimentos.
- Fennema, O. R. (2010). Química de los alimentos. Tercera edición México: Acribia.
- Fernández, C. F., Shahani, K. M., & Amer, M. A. (1988). Effect of nutrient media and bile salts on growth and antimicrobial activity of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.*, 71: 3222.
- Fernández, L. J., Pérez Á. J. A., Sayas B. E., & Aranda C. V. (2000). Characterization of the different states of myoglobin in pork using color parameters and reflectance ratios. *Journal of Muscle Foods*, 11(3): 157-167.
- Franco, J., Bianchi, G., Garibotto, G., Ballesteros, F., Nan, F., Percovich, M., & Bentancur, O. (2008). Parámetros de calidad de carne en cinco músculos de novillos Holando durante la maduración post-mortem. II. Evolución del color durante su almacenamiento. *Agrociencia* 12(1), 69-73.
- FSIS/USDA, (2000). Servicio de Inocuidad e Inspección de Alimentos (ALINORM 89/40, párr. 297).
- Gill, O.C., (1979). A review intrinsic bacteria in meat. *Journal of bacteriology* 47, 367-378.
- Grandin, T. (1993). Teaching principles of behavior and equipment design for handling livestock. *Journal of Animal Science* 71(3), 1065-1070.
- Guerrero I. 2007. Calidad de la carne, Curso-Taller: Ciencia y Tecnología de Carne, UAM, México. Consultado: <http://bmeditores.mx/estres-animal-antemortem-calidad-carne/>
- Hamm R. (1977). Postmortem breakdown of ATP and glycogen in ground muscle. A review *Meat Science* 1 (1), pp. 15-39
- Hechelmann, H., Bem, Z., Uchida, K., & Leistner, L. (1974). La presencia de Klebsiellae en la carne fresca y los productos cárnicos. 20º Encuentro Europeo de Investigadores Cárnicos, Dublín.

- Hugas, M., Pages, F., Garriga, M., & Monfort, J. M. (1998). Application of the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC494 to prevent growth of *Listeria* in fresh and cooked meat products packaged with different atmospheres. *Food Microbiology*, 15(6), 639-650.
- Horton, R., Moran, L., Scrimgeour, G., Perry, M., & Rawn, D. (2008). Principios de Bioquímica. 4ta. Edición. Pearson Educación. México, 700-701.
- Houtsma, P. C., De Wit, J. C., & Rombouts, F. M. (1993). Minimum inhibitory concentration (MIC) of sodium lactate for pathogens and spoilage organisms occurring in meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 20(4), 247-257.
- Hunt, M. C., King, A., Barbut, S., Clause, J., Cornforth, D., Hanson, D., & Pohlman, F. (2012). AMSA meat color measurement guidelines. *American Meat Science Association, Champaign, Illinois USA, 61820*, 1-135.
- Hwang, I. H., & Thompson, J. M. (2001). The interaction between pH and temperature decline early postmortem on the calpain system and objective tenderness in electrically stimulated beef longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, 58(2), 167-174.
- ICMSF. 1983. Ecología microbiana de los alimentos. Zaragoza, España: Acribia.
- Jerez, J. J. R. (2005). El uso de lactatos en el control de productos cárnicos. Disponible en: <http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2005/09/07/19918.php>
- Judge, M. D. (1989). *Principles of meat science* (No. 664.92 J8 1989).
- Keeton, J.T. (2001). "Procesamiento de productos avícolas con valor agregado", Memorias del Curso de Procesamiento Mexicano de Aves y Calidad del Producto. Asociación Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas de México, México D.F.
- Kempster, A. J., Cuthbertson, A., & Harrington, G. (1982). The relationship between conformation and the yield and distribution of lean meat in the carcasses of British pigs, cattle and sheep: a review. *Meat science*, 6(1), 37-53.
- Leistner, L. & Gould, G. W. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *Journal Food Microbiology*, 55, 181-186.
- López, L. A. & Jiménez, V. R. (2008) Bioconservación de carne de res y cerdo. *Revista de la Facultad de Ingeniería Química*. N° 47.
- Mancini, R. A., Hunt, M. C., Hachmeister, K. A., Kropf, D. H., & Johnson, D. E. (2005). Exclusion of oxygen from modified atmosphere packages limits beef rib and lumbar vertebrae marrow discoloration during display and storage. *Meat science*, 69(3), 493-500.

- NOM-034-SSA1-1993, Bienes y servicios. Productos de la carne. Carne molida y carne molida moldeada. Envasadas. Especificaciones sanitarias.
- NOM-051-ZOO-1995, Trato humanitario en la movilización de animales.
- NOM-092-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- NOM-194-SSA1-2004, Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos cárnicos.
- NOM-210-SSA1-2014, Productos y servicios. Métodos de pruebas microbiológicas. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.
- NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para procesar alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.
- Ordóñez P. J. A., Cambero R. M. I., Fernández Á. L., García S. M., García M. G. D., Hoz P. L., & Selgas C. M. D. (1998). Tecnología de los alimentos. Facultad de química, Universidad de Sevilla (España).
- Pascual, A., Rosario, M., & Calderón, V. (2000). Microbiología Alimentaria: Metodología analítica para alimentos y bebidas, Ed. Díaz de Santos, 2ª ed., pp. 220.
- Pearson, A. M., Thyne, R., Dutson, T. R. (2002), *Production and processing of healthy meat, poultry and fish products*, Springer Journal, Nueva York, pág. 254
- Prändl, O., Fischer, A., Schmidhofer, T. y Sinell, H.J. (1994), Tecnología e higiene de la carne. Ed. Acribia, pp 854.
- Roberts, T. A. 1997. Microbial growth and survival: developments in predictive modeling. *Food Technology* 51(3), 88-90.
- Sanudo, C. A. (1986). La calidad organoléptica de la carne IV. Facultad de Veterinaria Zaragoza. Revista Mundo Ganadero. Edagrícola España, S.A.: C/ Castelló, Madrid 32-28001.
- Serra, X., Grebol, N., Guardia, M. D., Guerrero, L., Gou, P., Masoliver, P., & Arnau, J. (2007). High pressure applied to frozen ham at different process stages. 2. Effect on the sensory attributes and on the colour characteristics of dry-cured ham. *Meat Science*, 75(1), 21-28.

- Stryer L. (1995) Biochemistry, 4th ed., W. H. Freeman and Co., New York, N. Y., USA, p. 483.
- Swartz, D.R., Greaser, M.L., & Cantino, M.E. (2009). Muscle structure and function. In Du, M., and McCormick, R.J. (eds.), *Applied Muscle Biology and Meat Sci.* Book: CRC Press Online, Taylor & Francis Group LLC, Boca Raton, FL, Chapter 1, pp. 1-45.
- Talon, R., Leroy S. S., & Fadda, S. (2002), Bacterial starters involved in the quality of fermented meat products. *Research Advances in Quality of Meat and Meat Products*. Research Signpost, Trivandrum, India, pp. 175-191.
- Warris P.D. (1982) J. Loss of carcass weight, liver weight and liver glycogen, and the effects on muscle glycogen and ultimate pH in pigs fasted pre-slaughter. *Sci. Food Agric.*, 33 (9), pp. 840-846.
- Weaver, R. A., & Shelef, L. A. (1993). Antilisterial activity of sodium, potassium or calcium lactate in pork liver sausage. *Journal of food safety*, 13(2), 133-146.
- Yam, K. L., Takhistov, P. T., Miltz, J. (2005). Intelligent packaging: Concepts and applications. *Journal of Food Science*, 70, 1–10.
- Zhou, G.H., Xu, X.L., & Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat. A review *Meat Science*, 86, 119-128.