

**COMPORTAMIENTO DE CARNE BOVINA MADURADA EMPACADA EN CONDICIONES  
DE ATMOSFERA MODIFICADA PROCEDENTE DE GANADO DE DOS EDADES.**

**JAIRO EFREN PASACHOA MORENO**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA SEDE BOGOTÁ  
ESPECIALIZACIÓN EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
2010**

**COMPORTAMIENTO DE CARNE BOVINA MADURADA EMPACADA EN CONDICIONES  
DE ATMOSFERA MODIFICADA PROCEDENTE DE GANADO DE DOS EDADES.**

**JAIRO EFREN PASACHOA MORENO**

**Trabajo Final como requisito parcial para optar al título de  
Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

**Director**

**JAIRO HUMBERTO LOPEZ VARGAS**

**Zootecnista, M. Sc., Doctor (c)**

**Profesor sección carnes ICTA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA SEDE BOGOTA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESPECIALIZACIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS  
2010**

## **AGRADECIMIENTOS**

El autor expresa sus agradecimientos a:

A la Universidad Nacional de Colombia por permitirme ser parte de tan prestigiosa institución.

Al programa de Especialización en Ciencia y Tecnología de Alimentos por permitirme no solo reforzar conocimientos si no enseñarme conceptos valiosos que me permiten mejorar como profesional y como persona.

Al Doctor Jairo Humberto Lopez Vargas por su valiosa orientación en la realización de este trabajo.

Al Doctor Hernando Flórez de Corpoica Centro de Investigación “La Libertad” en Villavicencio (Meta) y al Doctor Hugo Ballesteros de Corpoica Centro de Investigación “Tibaitatá” en Mosquera (Cundinamarca).

A Friogan por su colaboración.

A todas aquellas personas que de una u otra forma hicieron posible la realización de este trabajo.

## TABLA DE CONTENIDO

	Pagina
INTRODUCCION	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	9
1. MARCO TEORICO	10
1.1 Bioquímica de la transformación del músculo en carne	10
1.2 Bioquímica de la maduración de carnes bovinas almacenadas en vacío	11
1.3 Textura de carnes	15
1.4 Métodos de empaques de carnes frescas bovinas	16
2. MATERIALES Y METODOS	21
2.1 Materiales	21
2.2 Métodos	21
2.2.1 Color	21
2.2.2 Fuerza de corte	21
2.2.3 pH	21
2.2.4 Microbiológicos	21
2.3 Análisis estadístico	22
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
4. CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFIA	37

## LISTA DE TABLAS

Tabla No. 1 Valores promedios de las variables en estudio (Fuerza de corte).

Tabla No. 2 Valores promedios de las variables en estudio (pH).

Tabla No. 3 Valores promedios de las variables en estudio (variables colorimétricas).

## LISTA DE GRAFICOS

Gráfico No.1 Comportamiento de la Fuerza de Corte en carne empacada en Atmósfera modificada con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío.

Gráfico No.2. Comportamiento del pH en carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tiempos de maduración previa empacada en condición de vacío.

Gráfico No. 3 Comportamiento de  $L^*$  para carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío y dos edades de animales.

Gráfico No. 4 Comportamiento de  $b^*$  para carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío y dos edades de animales.

Gráfico No. 5 Comportamiento de  $a^*$  para carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío y dos edades de animales.

Gráfico No. 6 Comportamiento del tono para carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío y dos edades de animales.

Gráfico No.7 Comportamiento del índice de saturación para carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío y dos edades de animales.

Gráfico No. 8 Curvas espectrales de carne empacada en MAP para tres tratamientos de maduración al vacío.

## ANEXOS

- ANEXO 1 ANALISIS DE VARIANZA PARA FUERZA DE CORTE
- ANEXO 2 ANALISIS DE VARIANZA PARA pH
- ANEXO 3 ANALISIS DE VARIANZA PARA LA COORDENADA L\*
- ANEXO 4 ANALISIS DE VARIANZA PARA LA COORDENADA b\*
- ANEXO 5 ANALISIS DE VARIANZA PARA LA COORDENADA a\*
- ANEXO 6 ANALISIS DE VARIANZA PARA TONO
- ANEXO 7 ANALISIS DE VARIANZA PARA EL INDICE DE SATURACION
- ANEXO 8 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

## INTRODUCCIÓN

La decisión de compra en carnes de res está dada por la terneza y no menos importante por el color ya que los consumidores juzgan la aceptabilidad de un producto por la apariencia, sin embargo es universalmente conocido que el color de la carne es influenciado por la interacción de muchos factores ya que cada músculo tiene un propósito fisiológico específico resultando en diferentes tipos de fibras y funciones metabólicas, así cada músculo tiene una única química postmortem y estabilidad al color cuando es expuesto al oxígeno atmosférico, es por todo esto que la industria de carnes procesadas ha aumentado su esfuerzo en el empaque con atmósferas modificadas para carnes frescas, evidenciándose la necesidad de más investigación para establecer las relaciones entre factores intrínsecos particulares del músculo, el empaque y la estabilidad del color. Adicionalmente, se ha encontrado que el consumidor de carne empacada en atmósfera modificada (MAP) la encuentra dura en el momento de su consumo, debido a que estas carnes se empaquetan sin ser sometidas a maduración en vacío. La maduración es un método muy antiguo de ablandar la carne ya que la terneza mejora significativamente con 10 a 21 días de maduración, sin embargo este proceso aún no es muy bien controlado por la industria.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la maduración al vacío durante 0, 5 y 10 días sobre la terneza, el pH y el color de carne bovina procedente de animales de dos edades (animales entre 24 y 36 meses y animales de 48 meses) empacada en condición de atmósfera modificada (MAP) (mezcla de gases 0,5% CO, 30% CO<sub>2</sub>, 69,5% N<sub>2</sub>) durante 31 días, y además se evaluó el comportamiento microbiológico por medio de análisis de recuento de coliformes y *E. coli*, recuento de estafilococo coagulasa positiva, recuento de esporas de *Clostridium* sulfito reductor, recuento de *Pseudomonas aureginosa*, recuento de psicrófilos y detección de salmonella los días 1, 4, 9, 13, 18 y 21, para cada tratamiento.



## RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivo determinar los cambios fisicoquímicos en términos de color, textura y pH que presenta un corte bovino comercialmente conocido en Colombia como chatas (*Longissimus dorsi*) previamente madurado en condiciones de vacío (0, 5 y 10 días) procedente de ganado con edad entre 28 y 34 meses y mayores de 40 meses, al ser tajados en porciones de 400 gramos y empacados en bandeja Cryovac CS978B con almohadilla en condición de atmosfera modificada (30% CO<sub>2</sub>, 0,5% CO y 69,5% de N<sub>2</sub>), almacenado durante 21 días en condiciones de refrigeración. El empacado en atmosfera modificada de carne bovina previamente madurada en vacío da como resultado una desestabilización del color, sin embargo se obtienen valores más altos de a\* (mayores a 26,95), además se obtiene una disminución en la fuerza de corte de 6,66 kg a 3,94 kg, pero con 10 días de maduración al vacío se pone en riesgo la vida útil del producto alcanzando valores de 10<sup>4</sup> para bacterias psicrófilas.

## ABSTRACT

The aim of this work were determine the physicochemical changes in color, texture and pH in a bovine commercial meat cut known in Colombia as loin (*Longissimus dorsi*) previously submitted at vacuum conditions packaging (0, 5 and 10 days) from beef cattle (*Bos indicus*) in two ages groups (28-34 months and >40 months), sliced and packed in MAP (30% CO<sub>2</sub>, 0,5% CO, 69,5% N<sub>2</sub>), maintained during 21 days in refrigeration conditions. Condition of MAP by 21 days applied to bovine meat previously maintained in VP resulted in a unstable colour behavior but with higher values of a\* (higher than 26,95), besides is obtained a decreasing in shear force from 6,66 kgf to 3,94 kgf, but in 10 days of aging in vacuum condition is exposed the shelf life of product presenting 10<sup>4</sup> psicrophiles bacteria results.

## 1. MARCO TEORICO

### 1.1 Bioquímica de la transformación del músculo en carne.

El músculo es un tejido vivo cuya actividad contráctil característica es regulada normalmente de una forma determinada por el sistema nervioso. Después de ser sangrado un animal, las fibras musculares sobreviven durante algún tiempo mediante glicólisis anaerobia, aunque luego agotan la energía, bien su depósito primario de carbohidratos, el glucógeno, o bien el producto final de la glicólisis anaerobia, el lactato. Es entonces cuando las fibras musculares comienzan a perder su integridad al no disponer de energía. Los hechos que deberán producirse para la conversión óptima de los músculos en carne son bastante complejos. El pH deberá descender como consecuencia de la formación de lactato por glicólisis anaerobia. La formación incorrecta de lactato puede traducirse en la obtención de carnes oscuras, firmes y secas (DFD), que son carnes con un pH último elevado de más de 6,0 unidades. Por otro lado, un exceso de lactato, formado con demasiada rapidez mientras los músculos se encuentran aún calientes, genera un descenso muy rápido del pH, y puede originar carnes pálidas, blandas y exudativas (PSE).

Tras el sacrificio, debido al fenómeno conocido como *rigor mortis* los músculos aparecerán consistentes como resultado de la formación de enlaces cruzados entre sus filamentos gruesos y delgados y el exceso de enlaces cruzados puede provocar dureza en la carne.

El periodo que transcurre durante la conversión de los músculos en carne se denomina acondicionamiento o maduración, y durante el mismo se liberan las propias enzimas de la carne.

#### ***Rigor mortis***

El proceso bioquímico hasta el comienzo de la rigidez cadavérica o *rigor mortis* puede dividirse en dos fases:

Una primera fase en la que la flexibilidad y la elasticidad del músculo permanecen inalteradas. La carne es blanda y elástica. Esta fase tiene una duración variable, de 1 a 20 horas, dependiendo de

la reserva de glucógeno y creatinfosfato, así como de la temperatura del músculo. La hidrólisis del ATP aumenta como consecuencia de la disminución progresiva del pH, pero permanece compensada por la capacidad de resíntesis del ATP (Pearson, 1986).

Una segunda fase en la que la extensibilidad y elasticidad disminuyen rápidamente, en unas 2 ó 3 horas. Esto es debido a la desaparición del ATP y al incremento de la concentración de calcio, que conduce a la unión irreversible de actina y miosina, dando lugar a la instauración de la rigidez cadavérica. El periodo de tiempo que transcurre hasta la aparición de la rigidez cadavérica depende, como ya se ha mencionado, de ciertos factores internos y externos. Los factores internos más importantes son la cuantía de la reserva de glucógeno y de creatinfosfato. A más altos los niveles de estos compuestos en el músculo en el momento del sacrificio más tardíamente aparecerá la rigidez cadavérica y viceversa. La temperatura ejerce gran influencia como factor externo. La glicólisis y la consiguiente caída del pH, transcurren más lentamente cuanto menor es la temperatura de la carne. Con el enfriamiento rápido de la carne los procesos *post mortem* se retardan y la rigidez cadavérica aparece más tarde que cuando la temperatura de la carne es más alta. Los procesos bioquímicos se detienen, casi por completo, cuando la carne se congela antes de la aparición de la rigidez cadavérica. Así, el *rigor mortis* se presenta sólo cuando la carne se descongela, dando lugar al fenómeno denominado rigor de la descongelación o “*thaw rigor*”. Este fenómeno causa excesivas pérdidas de agua por goteo en los tejidos tras la descongelación.

El enfriamiento rápido de la carne después del sacrificio a temperaturas inferiores a los 14°C provoca una contracción irreversible de la musculatura en bovinos y ovinos, denominada acortamiento por el frío o “cold shortening”, que supone un incremento de la dureza de la carne. Los músculos pueden llegar a acortarse hasta un 50 o 60% y la fuerza máxima de cizallamiento determinada con una sonda de Warner-Bratzler puede incrementarse en tres o cuatro veces.

## **1.2 Bioquímica de la maduración de carnes bovinas almacenadas en vacío.**

La maduración de las carnes, período durante el cual se desarrollan las características organolépticas del producto final, toman en cuenta la evolución positiva y negativa de estas

características y los mecanismos que en ella contribuyen. Entre estas características, la terniza, y su forma más general la textura de la carne, permanece, hasta la actualidad, como la característica más buscada por los consumidores. De hecho, la carne es considerada demasiado dura para bovinos y cerdos, y a veces se considera no lo suficientemente firme para otras especies (pescado, pollo, entre otras).

La tiernización de las carnes es un proceso enzimático que implica los sistemas proteolíticos endógenos (Sentandreu et al., 2002). En este contexto, la atención de los investigadores se ha enfocado principalmente sobre dos sistemas enzimáticos conocidos desde hace varias décadas, que son las catepsinas y las calpainas. Esto ha conducido a tres líneas de trabajo:

- Una en la que se piensa que solo las calpainas son las responsables del proceso de tiernización de las carnes.
- Otra en la que se sugiere que los dos sistemas (catepsinas y calpainas) participan en este proceso.
- Finalmente la de Ouali et al., 2006, quienes proponen un proceso multienzimático que implica estos sistemas y probablemente otros cuya función, en el músculo post mortem, es menos bien conocida (proteasomas, caspasas, entre otros).

Una vez completado el rigor mortis, se inician cambios en la carne que tienden a hacer que la misma se vuelva progresivamente más tierna, a la vez que se mejora el sabor y el aroma (Huff et al. 1993). Estos cambios que ocurren naturalmente en los tejidos musculares almacenados en refrigeración, ya sean empacados al vacío o suspendidos en la canal, se denominan en conjunto maduración. La mejoría en la terniza alcanzada por medio de la maduración es generalmente común a todas las especies de ganado (Campo et al. 1999).

El proceso de maduración es en sí complejo, no obstante amplia evidencia experimental establece que los cambios se deben a la acción de sistemas enzimáticos endógenos los cuales se encuentran relacionados con la ruptura de las proteínas miofibrilares claves responsables de la estructura muscular (Ouali 2006; Koohmaraie 1994). A diferencia de las proteínas miofibrilares, el tejido conectivo no es significativamente fragmentado y difícilmente cambia durante el periodo de

maduración, por lo cual la mejoría en la terniza no es atribuible a cambios importantes en el colágeno o la elastina (Nishimura et al. 1999).

La entrada en acción de las enzimas proteolíticas está relacionada con el pH que se da en el músculo durante la formación del rigor mortis. Debido a esta variación abrupta del pH, se acelera el rompimiento de las membranas de los lisosomas, la cual es sensible a valores de pH extremos, liberándose así las proteasas causantes de la actividad autolítica (Yu et al. 1986). El acortamiento muscular que ocurre durante el desarrollo del *rigor mortis* resulta en una disminución en terniza. Este aumento en dureza debido al *rigor* puede ser eliminado almacenando la carne durante 7 a 14 días a 2°C (Wheeler y Koohmaraie, 1994) antes de congelarla, proceso que se conoce como maduración o “aging” (Morgan et al., 1991). Huff et al (1993) encontraron que la terniza mejora con la maduración debido a la proteólisis *postmortem* de las proteínas miofibrilares que conduce a una fragmentación de la fibra muscular.

Los músculos menos tiernos presentan menor degradación miofibrilar durante el almacenamiento *postmortem*. El primero y más importante cambio que ocurre en las proteínas miofibrilares durante el almacenamiento *postmortem* es el rompimiento de los discos Z (Koohmaraie, 1988). Wheeler y Koohmaraie (1994) reportaron que un aumento en el tiempo de maduración de 24 horas a 14 días mejora significativamente la terniza de la carne.

Muchos autores coinciden en otorgar a las proteinasas neutras activadas por calcio ó calpaínas, un papel crucial y preponderante en los cambios asociados con la maduración, aún por sobre las catepsinas (Koohmaraie 1994; Taylor et al. 1998). Las catepsinas están más relacionadas con la proteólisis a temperaturas cercanas a los 20°C, por lo cual en teoría no habrán de ser un factor de peso durante la maduración en refrigeración.

Las calpaínas constituyen una amplia familia de proteinasas intracelulares citosólicas dependientes del  $Ca^{2+}$ , cisteína específicas y manifiestas en muchas isoformas, las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en todos los tejidos y muestran una actividad regulada a valores de pH fisiológicos (Suzuki et al. 1998). Este sistema enzimático ha sido encontrado en todas las familias de vertebrados, aunque no existe evidencia de su presencia en plantas. En los

mamíferos se encuentran presentes en todos los tejidos siendo sus características generales variables según la especie y la ubicación (Koochmaraie, 1988). El sistema proteolítico de las calpaínas consiste de al menos tres componentes: la calpaína-I, que se activa con concentraciones micromolares de calcio, la calpaína-II, que se activa con concentraciones milimolares de calcio y calpastatín, que inhibe la actividad de ambas calpaínas (Koochmaraie, 1992).

La raza, la condición sexual y la edad del animal son factores que afectan la ternera de la carne. Varios investigadores reportaron que los animales de la raza Brahman y sus cruces presentan carne menos tierna que los de la raza Holstein, lo que puede deberse a las diferencias en la genética de los animales. Whipple et al. (1990) encontraron que las diferencias en ternera entre *Bos indicus* y *Bos taurus* son mayores para ciertos músculos. La condición sexual de los animales es otra variable que puede afectar la ternera de la carne, aún cuando la literatura presenta inconsistencias acerca de su importancia. Mientras que Prost et al., 1975, afirman que el efecto de la condición sexual sobre la ternera no fue significativo. Por otro lado, Huff et al., 1993, encontraron que la edad del animal y la maduración *postmortem* tienen más influencia en la ternera de la carne que la condición sexual del animal.

El tejido conectivo se compone principalmente de dos tipos de fibras proteicas: colágeno y elastina. El colágeno, principal constituyente del tejido conjuntivo blanco, presenta la propiedad de que se hidroliza y gelatiniza durante la cocción en ambiente húmedo. Por el contrario, la cocción tiene poco o ningún efecto sobre las fibras de elastina. Whipple et al., (1990) no encontraron diferencias en el contenido de colágeno total y soluble para los cruces de razas entre el día 1 y los 14 días *postmortem*. Los autores llegaron a la conclusión de que ni la solubilidad ni la cantidad de colágeno contribuyeron a las diferencias en ternera entre los bovinos de varios genotipos del estudio. Los cambios en ternera que ocurren en la carne durante el proceso de cocción se han asociado con las alteraciones que el calor produce sobre el colágeno y las proteínas miofibrilares en la estructura primaria del tejido muscular (Bertola et al., 1994).

### 1.3 Textura de carnes.

La jugosidad, el sabor y la terniza son los principales componentes sensoriales asociados con la carne (Epley 1992). Mientras que la jugosidad y el sabor ciertamente contribuyen con el agrado general, los consumidores catalogan a la terniza como la variable más importante asociada a la aceptación final de la carne. Lo anterior es de gran importancia, sobre todo si se considera que aunque la jugosidad y el sabor normalmente no varían significativamente, la dureza puede variar considerablemente entre un corte y otro (Epley 1992).

La terniza es el atributo de aceptación más importante para la carne y es un determinante primario de la calidad de ésta (Koochmaraie, 1988). Este hecho es fácilmente confirmado por la relación positiva que hay entre el precio de un corte de carne y su terniza. La inconsistencia en la terniza de la carne ha sido identificada como uno de los principales problemas que enfrenta la industria de carnes en la actualidad (Smith et al., 1995), incluso se afirma que la falta de uniformidad, el exceso de grasa y la inadecuada terniza son componentes de la calidad de la carne que preocupan fuertemente a la industria.

Muchos son los factores asociados a la dureza descritos en la bibliografía. Entre ellos se puede mencionar el tamaño del músculo, existiendo mayor terniza a menor tamaño, la localización del músculo en el animal vivo, la función fisiológica del músculo (Bayliss 1995), la edad del animal, la especie, la condición sexual y factores genéticos (Epley 1992), procesos industriales posteriores al sacrificio (Bayliss 1995), y hasta el temperamento del animal (Voisinet et al 1997). Contrariamente a la creencia popular, el tipo de alimentación suministrada al animal no tiene un efecto importante o al menos de relevancia práctica en la dureza (Jeremiah et al. 1998; Sinclair et al. 1998), siendo únicamente de interés cuando en la dieta se incluyen arbitrariamente  $\beta$  antagonistas como el cimaterol y el clenbuterol que pueden favorecer el endurecimiento (Simmons et al. 1997). Estas sustancias constituyen un grupo de compuestos que emulan la acción bioquímica de la adrenalina y la noradrenalina.

Fundamentalmente la dureza de la carne se encuentra determinada por la ultra estructura que conforman los diferentes componentes tales como la proteína, la grasa y el tejido conectivo, así

como la cantidad y calidad de estos componentes (Epley , 1998). De este modo la composición y organización estructural sumadas a los cambios bioquímicos postmortem son elementos importantes al describir los mecanismos que definen la textura final del corte de carne (Ouali 1990).

Durante la maduración, el aumento en la ternura se da rápidamente durante los primeros 3 a 7 días, período después del cual esta mejoría es relativamente pequeña. Períodos de maduración más prolongados a temperatura de refrigeración puede favorecer poco a la ternura y ser causantes de sabores indeseables y crecimientos microbianos (Huff et al.1993).

El descenso en el pH, el rigor mortis y la maduración se encuentran muy estrechamente relacionados, sobre todo si se toma en cuenta que entre mayor sea la dureza que alcanza el músculo durante el rigor, es menos lo que la maduración puede hacer para revertirla.

#### **1.4 Métodos de empaques de carnes frescas bovinas**

La venta de carne fresca empacada se ha convertido en una forma de venta al por menor universalmente aceptada y es el método preferido de muchas personas que desean la comodidad y la variedad en la elección de los cortes que pueden comprar. Aunque el sistema no ha alcanzado el nivel que se esperaba en las predicciones iniciales, según las cuales las formas tradicionales de carnicería podrían ser completamente reemplazadas por las operaciones centralizadas de deshuesado basados en diferentes sistemas de empaquetado, la carne fresca empacada continua jugando un papel comercial, cada vez más importante. En la actualidad los sistemas de carne empacada y la carnicería tradicional conviven uno junto al otro, satisfaciendo las exigencias y las expectativas de los diferentes consumidores. (Parry, 1995).

Se han ensayado diferentes composiciones de gases para retrasar la alteración de las carnes frescas. El dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) o combinaciones de CO<sub>2</sub> con o sin oxígeno y nitrógeno han sido tradicionalmente las atmósferas más importantes para aumentar la vida útil de la carne fresca. Brody (1996).



La carne fresca se empaqueta en una bolsa impermeable al oxígeno, a la cual se le extrae el aire automáticamente; de esta forma se puede almacenar a una temperatura de  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  por períodos de tres semanas o más. La carne fresca debe ser enfriada bajo condiciones sanitarias apropiadas para asegurar una cantidad mínima de desarrollo bacteriano.

El envasado al vacío consiste en la eliminación total del aire del interior del envase sin que sea reemplazado por otro gas. En el envasado al vacío, existe una diferencia de presión entre el exterior y el interior del envase. Por tanto, cuando el envase es rígido, como un envase metálico o de vidrio, el efecto de la diferencia de presión podría acarrear el ingreso de aire o microorganismos. En el caso de envases semirrígidos, la diferencia de presión puede causar el colapso del envase y el subsiguiente daño al producto al contactar con él, así como la aparición de fugas (*Brody, 1996*).

Las carnes frescas, continúan con sus actividades respiratorias, consumiéndose así la pequeña cantidad de oxígeno presente en los tejidos del producto, con lo que aumenta el vacío y se produce dióxido de carbono y vapor de agua. Desde el punto de vista práctico, el envasado de un producto metabólicamente activo, se transforma, por tanto, en un envasado en atmósfera modificada (*Brody, 1996*).

El empaquetado en atmósfera modificada consiste en la introducción de una mezcla específica de gases en el empaque inicial del alimento, sin posterior control de la atmósfera. Los gases que presentan interés en el empaquetado aerobio en atmósfera modificada son oxígeno, dióxido de carbono y nitrógeno, especialmente los dos primeros. El nitrógeno es inerte y no proporciona funciones bactericidas o bacteriostáticas, pero puede incluirse para ayudar a evitar el colapso del paquete, cuando se disuelve el dióxido de carbono en los fluidos de la carne. Para conseguir los mejores efectos, debe existir un exceso de gas (aproximadamente 1,5-2,0 veces el volumen de la carne). La utilización de una elevada concentración de oxígeno (75%) y bajo contenido de dióxido de carbono (25%), desarrolla un color rojo-brillante en la carne de res y rosa en la carne de cerdo, que se oxida gradualmente a rojo parduzco en carne de res y rosa parduzco en carne de cerdo después de 12 días, respectivamente (*Parry, 1995*).

Con respecto al monóxido de carbono, el color rojo cereza del derivado del monóxido de carbono, carboxiomioglobina, es más estable que la oximioglobina y es una alternativa posible para el pre-empacado de la carne fresca. La posibilidad de incrementar la oxidación de la grasa con una concentración mayor de oxígeno ha sido otra razón para el empleo potencial del monóxido de carbono. Los beneficios del uso de CO para resaltar el color en empaques de atmósfera modificada son bien conocidos y han sido publicados por autores tales como Sorheim (2009) el cual reporta que una inclusión de 0.4% de CO en atmósfera modificada para cortes de cerdo resultan en un color rojo brillante con elevados niveles de valores de  $a^*$  por un periodo de almacenamiento de 21 días. Luño *et al* (2000), reportan incrementos en la inhibición de la oxidación de los lípidos aumentando las concentraciones de CO en AM, este efecto fue evidente en niveles de 0.5-1.0% de CO y el efecto antioxidante podría tener algún efecto en la extensión de la vida útil de la carne, pero, Wilkinson *et al*, (2006) reportaron que la mezcla gaseosa con CO no tiene efectos en la oxidación de los lípidos. Desde el punto de vista microbiológico la inclusión de CO en las carnes empacadas en atmósfera modificada ha sido controversial, debido a que la estabilidad del color rojo puede enmascarar el crecimiento de bacterias patógenas al extender la vida útil de la carne empacada en condiciones de atmósfera modificada y con la inclusión de altas concentraciones de CO<sub>2</sub> y bajas concentraciones de CO la carne adquiere un color estable y la vida útil a 4°C es significativamente más alta que con otras mezclas, pero se considera que a esta temperatura (4°C) bacterias tales como *Yersinia enterocolitica* y *Listeria monocytogenes* son consideradas los más serios patógenos de la carne, por otro lado, en condiciones de abuso de la temperatura (>8°C) bacterias tales como *E. Coli* O157:H7 y *Salmonella spp*, pueden crecer e incrementar el riesgo para la salud del consumidor, sin embargo, la Comisión Europea para la Salud y la Protección al Consumidor reporta que la *E Coli* O157:H7 no crece a 4°C y a 10°C fue totalmente inhibida con la utilización de una atmósfera que contiene un alto nivel de CO<sub>2</sub>, un bajo nivel de CO y altas concentraciones de O<sub>2</sub>. En el caso de la *salmonella spp*. se reporta que no crece a 4°C y a 10°C los patógenos *S. typhimurium*, *S. dublín*, *S. enteritidis* crecen bien alrededor de un periodo de 5 a 7 días en altas concentraciones de CO<sub>2</sub>, bajas concentraciones de CO mezclados con altos niveles de O<sub>2</sub>, adicionalmente, el crecimiento de *Pseudomona* es retardado bajo condiciones anaerobias. Autores tales como Wicklund *et al* (2006) informan que el monóxido de carbono es un bacteriostático selectivo para algunos microorganismos y se ha reportado que el CO no ha tenido efectos en el crecimiento

de *P. aeruginosa*, y el crecimiento de *Escherichia coli* es proporcional a la concentración de monóxido de carbono incluido dentro de la atmósfera. Se ha evaluado el crecimiento de *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* y *E.coli* O157:H7, en condiciones de atmósfera modificada con la inclusión de CO y ha inhibido el crecimiento de las bacterias anteriormente mencionadas pero no ha inhibido el crecimiento de la *Salmonella spp* a temperaturas altas (American meat science association, 2008) indicando que el abuso de temperaturas de almacenamiento (10°C), puede afectar los niveles de crecimiento de la microflora y consecuentemente e independiente del método de empaque la vida útil también puede ser extendida por el mantenimiento de las bajas temperaturas (Sorheim *et al.* 2009). El incremento de la eficacia en la reducción de los microorganismos del CO<sub>2</sub> a temperaturas bajas está relacionado con la disolución del CO<sub>2</sub> en la fase acuosa de la carne. Dado que la solubilidad de los gases es mucho mayor a bajas temperaturas, la concentración de CO<sub>2</sub> en el medio aumenta a medida que baja la temperatura. También se puede establecer que el cambio de pH se debe a la absorción de CO<sub>2</sub> en la superficie del alimento y la consiguiente ionización del ácido carbónico. (Brody, 1996). El Departamento de Agricultura y la Agencia de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (por sus siglas en inglés USDA y FDA, respectivamente), aprobaron el uso de monóxido de carbono en un 0.4% con la inclusión de un 30% de dióxido de carbono y balanceado con nitrógeno, es decir en condiciones anaeróbicas (John *et al*, 2005). Adicionalmente, el monóxido de carbono fue declarado un aditivo alimentario “Generalmente reconocido como seguro” o Gras, por la Agencia de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos en una concentración del 0.4% con otros componentes de los empaques en atmósfera modificada (American Meat Institute, 2007) (Brad, 2003). Además la Comisión Europea para la Salud y la Protección al Consumidor (European commission, health and consumer protection directorate-general.)(2001) declaró que el CO en los empaques en atmósfera modificada debe tener un grado de pureza del 99.3% y el gas puede ser adicionado como premezcla en contenedores que previenen los peligros ocupacionales por exposición al CO. Esta misma Comisión propone mezclas de gases para carnes frescas (bovino, cerdo, cordero, caballo, cabra, reno y otras especies de caza) empacadas en atmósfera modificada así: 60% a 70% CO<sub>2</sub>, 30% a 40% N<sub>2</sub> y 0.3% a 0.5% CO y la FDA aprobó una pureza mínima de 98% con un restante 2% de otros componentes encontrados en la atmósfera (Nitrógeno, Oxígeno, Dióxido de Carbono, Argón, Agua, Hidrogeno y/o Metano). De modo que en ésta condición la mezcla está considerada de pureza de grado alimenticio. Desde

1985 las plantas productoras de carne en Noruega han usado con seguridad 0.4% de CO en empaques en atmósfera modificada para carnes rojas, cerdo y cordero fresco. Las mezclas gaseosas más comunes tienen una composición entre 0,3%-0,4% CO; 60-70% CO<sub>2</sub> y 30-40% N<sub>2</sub>; alrededor del 60% de la carne fresca vendida en Noruega tiene estas composiciones gaseosas almacenada a 2°C con vida útil promedio de 21 días. (John *et al*, 2005) y Jayasingh *et al* (2001) informan una vida útil mayor a 21 días en carne de res con inclusión de 0.5% CO, 60% de CO<sub>2</sub> y 39.5 % de N<sub>2</sub>.

En la carne fresca el color se debe principalmente a los pigmentos de mioglobina y hemoglobina, representando la mioglobina alrededor del 80% al 90% de estos pigmentos, mientras que la hemoglobina y los citocromos contribuyen al remanente. Sin embargo, el color depende principalmente del estado de oxidación del átomo de hierro en el anillo no proteico del compuesto hemo y en el anillo pirrólico del hierro a la altura del radical libre. Por lo tanto, el color de la carne varía dependiendo del estado de oxidación de la mioglobina; La mioglobina rica en oxígeno (oximioglobina) con la estructura ((globin-anillo tetrapirrólico-Fe<sup>+2</sup>(O<sub>2</sub>)) es rojo brillante como normalmente está en los músculos vivos; la mioglobina reducida (deoximioglobina) con la estructura ((globin-anillo tetrapirrólico-Fe<sup>+2</sup>(H<sub>2</sub>O)), dentro de la atmósfera reducida de la célula del músculo es púrpura, color obtenido poco después del sacrificio; la mioglobina oxidada metamioglobina con la estructura ((globin-anillo tetrapirrólico-Fe<sup>+2</sup>(OH)), es de color café, entonces encontramos que en la mioglobina el hierro se encuentra en forma ferrosa (Fe<sup>2+</sup>) mientras que está oxidado en la forma férrica (Fe<sup>3+</sup>) en la metamioglobina, Estas dos reacciones, oxigenación y oxidación, se producen en la superficie de las carnes recién cortadas. En donde se dispone de oxígeno libremente, se forma mioglobina roja, pero a medida que avanza la penetración del oxígeno hacia el interior, su presión parcial disminuye debido al consumo de oxígeno. (Parry,1995). El color rojo cereza de la carboxymyoglobina tiene la estructura (globin-anillo tetrapirrólico-Fe<sup>+2</sup>(CO))(Sorheim *et al*. 1999), esta carboximioglobina es producida por la inclusión de CO el cual es más resistente a la oxidación que la oximioglobina debido a las fuertes uniones del CO en el lugar del enlace férrico en la molécula de mioglobina. (Comisión Europea para Salud y Protección al Consumidor, 2001).

## 2. MATERIALES Y METODOS

### 2.1 Materiales

Se usó un corte de bovino *Longissimus dorsi* (chatas) procedente de bovinos Cebú con edad entre 24 y 36 meses y de 48 meses, con tiempo de maduración al vacío de 0, 5 y 10 días (VP 0d MAP, VP 5d MAP, VP 10d MAP), que luego fueron tajados y empacados en MAP (30% CO<sub>2</sub>, 0,5% CO y 69,5% de N<sub>2</sub>), en la planta de Frigoríficos Ganaderos de Colombia-Friogan en la ciudad de Villavicencio, en porciones de 400g en bandejas Cryovac ref CS978B, con almohadilla y película BDF 2060 FILM Cryovac, en la empacadora Baltic (ULMA Global Packaging), después de lo cual se almacenaron en condiciones de refrigeración (2°C +/- 2°C) durante un periodo de muestreo de 21 días, con muestreos los días 1, 4, 9, 13, 18 y 21.

### 2.2 Métodos

Las variables colorimétricas fueron determinadas con un equipo Hunter Lab, la textura con cuchilla Warner-Blatzler y texturometro Shimadzu, el pH con pHmetro Testo 205 y los gases con un equipo Dansensor.

2.2.1 Color. La técnica utilizada fue la de reflectancia, determinando los parámetros objetivos de color utilizando el espacio de color CIELAB (D<sub>65</sub>, 10°, SCI). De los parámetros de color se interpretaron las coordenadas **L\*** (luminosidad), **a\*** (rojo / verde), **b\*** (amarillo/azul), tono e índice de saturación (American Meat Science Association, 1991.) (Honikel 1998)

2.2.2 Fuerza de corte. Cada medición fue realizada con una cuchilla Warner-Blatzler usando un texturometro Shimadzu y empleando un sacabocados de ½ pulgada de diámetro interno y una longitud de aproximada de 2 pulgadas.

2.2.3 pH. El método utilizado fue potenciometría con medición directa sobre la muestra de carne.

2.2.4 Microbiológicos. Las técnicas Utilizadas son las reportadas por el INVIMA, 1998:

- Recuento de Coliformes totales y E.coli
- Detección *Salmonella spp*
- Recuento de estafilococo coagulasa positiva.
- Detección de *Pseudomona aureginosa*.
- Recuento de *Psicrofilos*

En el caso de bacterias psicrófilas no existen normas de referencia

### 2..3 Análisis estadístico

Se relacionaron dos Factores de variación (la edad de los bovinos y el tiempo de maduración empacado al vacío) que constituyen los tratamientos, aplicándose un Diseño Experimental Factorial totalmente aleatorizado.

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\tau\beta\gamma)_{ijk} + e_{ijkl}$$

$$i = 1, 2, \dots, a$$

$$j = 1, 2, \dots, b$$

$$k = 1, 2, \dots, c$$

$$l = 1, 2, \dots, d$$

$Y_{ij}$  = Respuesta en la  $j$ -ésima observación.

$\mu$  = media de la  $i$ -ésima población en tratamiento

$e$  = error experimental

#### Hipótesis

1. Hipótesis nula: no hay diferencia en la interacción entre los factores (edad de los bovinos y tiempo de maduración empacado al vacío).

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

2. Hipótesis alterna: existe diferencia en la interacción entre los tratamientos (edad de los bovinos y tiempo de maduración empacado al vacío).

$$H_a: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

Se usó para el análisis estadístico el software especializado Statgraphics Centurion XV (Chicago, Ill, USA), y se realizó análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de significancia de Tukey y Bonferroni para determinar las diferencias significativas.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los datos promedios obtenidos para los diferentes tratamientos (Edades, tiempo de maduración a vacío y tiempo de almacenamiento en condición de atmósfera modificada).

Tabla No. 1 Valores promedios de las variables en estudio (Fuerza de corte).

Promedio Fuerza de corte WB (kg)							
EDAD	Tratamiento	DIA					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	6.378	8.115	4.510	5.136	4.686	6.652
	VP 5d MAP	6.028	5.069	6.036	5.114	5.086	3.806
	VP 10d MAP	3.725	6.603	3.752	6.042	5.434	4.464
24 - 36 meses	VP 0d MAP	6.497	7.869	5.437	6.361	5.085	5.291
	VP 5d MAP	7.210	6.339	6.766	5.210	6.677	5.051
	VP 10d MAP	3.571	4.902	4.348	5.611	4.543	5.435

Tabla No. 2 Valores promedios de las variables en estudio (pH).

Promedio de pH							
EDAD	Tratamiento	DIA					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	5.48	5.49	5.48	5.49	5.61	5.55
	VP 5d MAP	5.49	5.55	5.47	5.63	5.48	5.60
	VP 10d MAP	5.49	5.41	5.53	5.50	5.55	5.49
24 - 36 meses	VP 0d MAP	5.41	5.39	5.44	5.44	5.50	5.52
	VP 5d MAP	5.54	5.51	5.54	5.61	5.47	5.59
	VP 10d MAP	5.51	5.44	5.58	5.51	5.54	5.51



Tabla 3 Valores promedios de las variables en estudio (variables colorimétricas).

Promedio coordenada L*							
EDAD	Tratamiento	DIA					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	35.040	39.719	41.978	43.000	40.723	40.991
	VP 5d MAP	38.097	39.549	40.788	42.234	40.674	44.094
	VP 10d MAP	38.331	40.225	40.974	40.666	42.345	41.466
24 - 36 meses	VP 0d MAP	39.571	40.423	42.005	42.335	40.583	41.545
	VP 5d MAP	37.394	40.972	40.914	41.643	41.055	42.446
	VP 10d MAP	37.823	40.293	41.890	42.457	38.884	42.196
Promedio coordenada a*							
EDAD	Tratamiento	DIA					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	27.424	31.853	30.288	33.418	28.194	33.077
	VP 5d MAP	28.724	32.461	34.069	34.078	33.729	35.715
	VP 10d MAP	28.291	29.808	31.719	29.952	30.680	27.044
24 - 36 meses	VP 0d MAP	26.136	29.806	28.005	29.838	30.394	29.340
	VP 5d MAP	29.659	31.562	31.049	33.065	29.745	29.450
	VP 10d MAP	27.374	31.920	33.353	34.972	21.357	26.952
Promedio de coordenada b*							
EDAD	Tratamiento	DIA					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	16.156	21.084	21.698	23.240	22.011	23.274
	VP 5d MAP	18.494	22.438	23.229	23.520	23.544	24.147
	VP 10d MAP	18.676	21.943	21.076	21.181	21.317	19.730
24 - 36 meses	VP 0d MAP	17.559	20.320	20.463	21.364	22.253	21.990
	VP 5d MAP	19.136	21.129	22.171	24.472	21.494	20.409
	VP 10d MAP	18.000	20.543	25.361	23.788	18.351	20.011
Promedio de Tono							
EDAD	Tratamiento	DIA					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	30.448	33.401	35.646	34.883	38.492	35.146
	VP 5d MAP	32.616	34.650	34.288	34.533	34.908	34.055
	VP 10d MAP	33.385	36.374	33.628	35.215	35.264	36.596
24 - 36 meses	VP 0d MAP	33.865	34.307	36.163	35.582	36.275	36.934
	VP 5d MAP	32.758	33.798	35.527	36.553	35.843	34.866
	VP 10d MAP	33.322	32.748	37.146	34.224	41.861	37.323
Promedio de índice de saturación							
EDAD	Tratamiento	DIA					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	31.501	36.109	34.719	36.700	37.700	36.723
	VP 5d MAP	35.309	37.986	38.166	41.169	36.704	35.849
	VP 10d MAP	32.774	37.964	41.920	42.309	28.348	33.673
24 - 36 meses	VP 0d MAP	31.834	38.219	37.266	40.716	35.818	40.449
	VP 5d MAP	34.180	39.472	41.245	41.420	41.139	43.116
	VP 10d MAP	33.904	37.019	38.092	36.690	37.403	33.533

Se presentaron efectos de la Edad sobre la Fuerza de Corte ( $P \leq 0,05$ ) (ANOVA, ANEXO 1). Al realizar la prueba de significancia de Bonferroni, no se presentaron diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre ambas edades (Edad entre 24-36 meses vs Edad 48 meses), lo cual es contrario a lo reportado por Álvarez et al. Quien registró que se presentan diferencias significativas en cuanto a la terneza entre las dos edades estudiadas (12 a 24 meses y 36 a 42 meses), mostrando una menor fuerza al corte en las edades más jóvenes (12 a 24 meses). Lo anterior es confirmado por Moreira et al. Al comparar la fuerza de corte necesaria para carne proveniente de ganado de dos edades diferentes y sometidas a diferentes tiempos de maduración.

Según el ANOVA (ANEXO 1) hay efectos del tiempo de empacado en MAP vs la Fuerza de corte, no presentándose diferencias significativas a través de la prueba de Bonferroni entre 1 día de empacado en atmósfera modificada y 4 días de empacado en atmósfera modificada ( $P \leq 0,05$ ), pero si entre el día 4 de empacado en atmósfera modificada y los días de muestreo (9, 18 y 21 días).

Con respecto al tiempo de maduración en condición de vacío, si presentó efecto sobre la fuerza de corte (ANOVA, ANEXO 1). Presentándose diferencia significativa ( $P \leq 0,05$ ) a través de la prueba de Bonferroni entre el tiempo de maduración en condición de vacío (10 días) y los tiempos de maduración de 0 y 5 días. Tal como puede observarse en el gráfico 1. Lo anterior se encuentra en concordancia a lo hallado por Wheeler et al. En un estudio sobre la terneza de la carne bajo diferentes tratamientos, entre ellos diferentes tiempos de maduración, obteniendo como resultado que a mayor número de días de maduración se influye sobre la terneza de la carne ya que las muestras presentan menor fuerza de corte. Este mismo comportamiento también fue registrado por Shackelford et al. Al trabajar con la variable respuesta terneza en el musculo longissimus de bovinos *Bos indicus*.

No hubo efecto de la interacción día MAP x Edad sobre la variable respuesta fuerza de corte, según el análisis de varianza (anexo 1). Por otra parte las interacciones día MAP x VP y edad x VP si presentaron efecto sobre la fuerza de corte, al igual que la interacción día MAP x edad x VP.

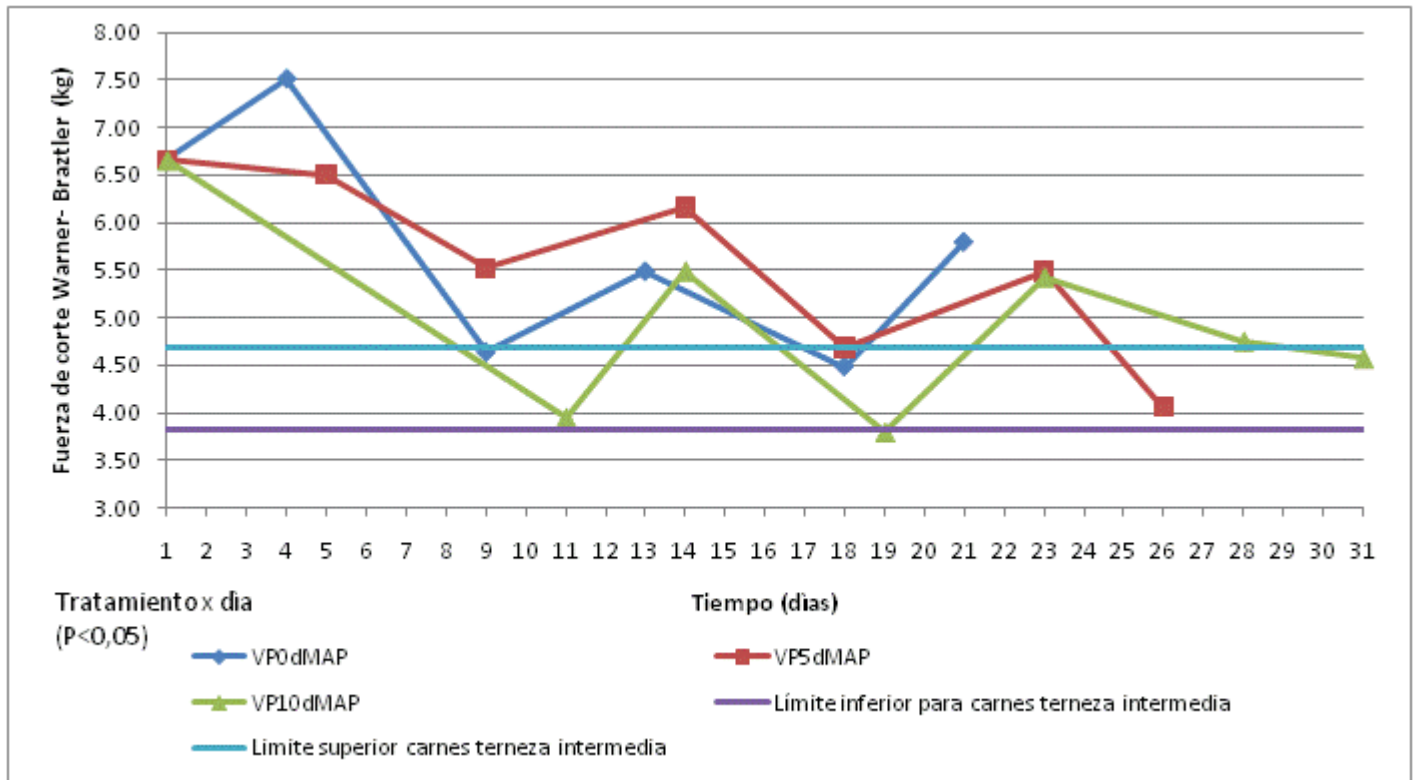


Grafico 1 Comportamiento de la Fuerza de Corte en carne empacada en Atmósfera modificada con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío.

Se presentaron efectos de la Edad sobre la respuesta obtenida en pH (ANOVA, anexo 2), con diferencias significativas al aplicar la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) entre la edad 1 (24-36 meses) y la edad 2 (48 meses).

Se presentó efecto del tiempo de empacado en atmósfera modificada sobre la respuesta en pH (ANOVA, anexo 2), con diferencias significativas a través de la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) entre el día 1 vs 13, 18 y 21; entre el día 4 vs los días 9, 13, 18 y 21 días; entre el día 9 y el día 21. Gráfico 2.

Con respecto al tiempo de maduración en condición de vacío, si se presentó efecto sobre el pH (ANOVA, anexo 2). Presentándose diferencia significativa ( $P \leq 0,05$ ) a través de la prueba de Tukey entre los tres tiempos de maduración en condición de vacío.

Según el análisis estadístico las interacciones día MAP x edad, día MAP x VP y edad x VP mostraron efecto sobre la variable de respuesta pH, mientras que la interacción día MAP x edad x VP no presento el mismo comportamiento.

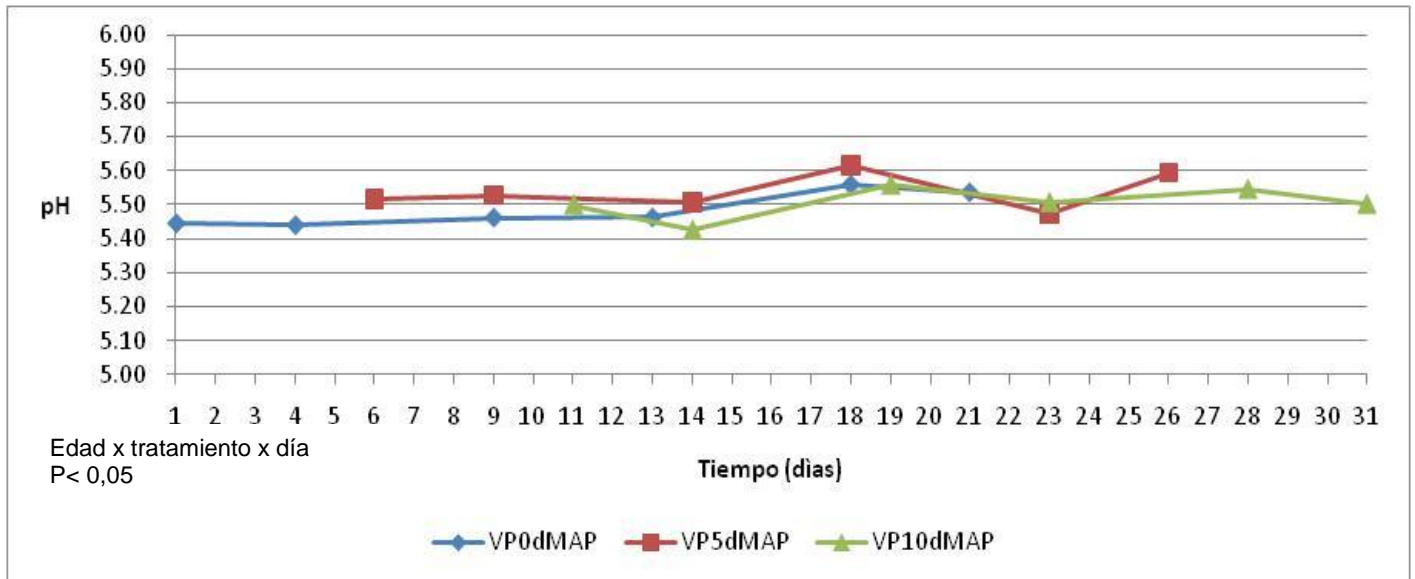


Gráfico No.2. Comportamiento del pH en carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tiempos de maduración previa empacada en condición de vacío.

Con respecto a las variables colorimétricas,  $L^*$  presentó diferencia estadísticamente significativa a través del test de Bonferroni ( $P \leq 0.05$ ) (anexo 3) con respecto al tiempo entre el día 1 y el día 4, 9, 13, 18 y 21; entre el día 4 y los días 9, 13 y 21; entre el día 13 y el día 18 y entre el día 18 y 21. Lo cual no concuerda con los resultados reportados por John et al (2005) ya que en su trabajo, evaluando tres tiempos de almacenamiento de carne bovina cruda a  $2^{\circ}\text{C}$  por 7, 14 y 21 días, no encontró efectos significativos en las variables colorimétricas, esto indicaría un efecto de desestabilización del color resultante de los procesos de empacado a vacío y posterior empacado en atmósferas modificadas.

Para la variable  $L^*$ , las variables Edad y tiempo de maduración (VP) según el análisis de varianza no presentaron efecto.

Según el análisis estadístico las interacciones día MAP x edad, día MAP x VP y día MAP x edad x VP mostraron efecto sobre la variable  $L^*$ , mientras que la interacción edad x VP no presento efecto.

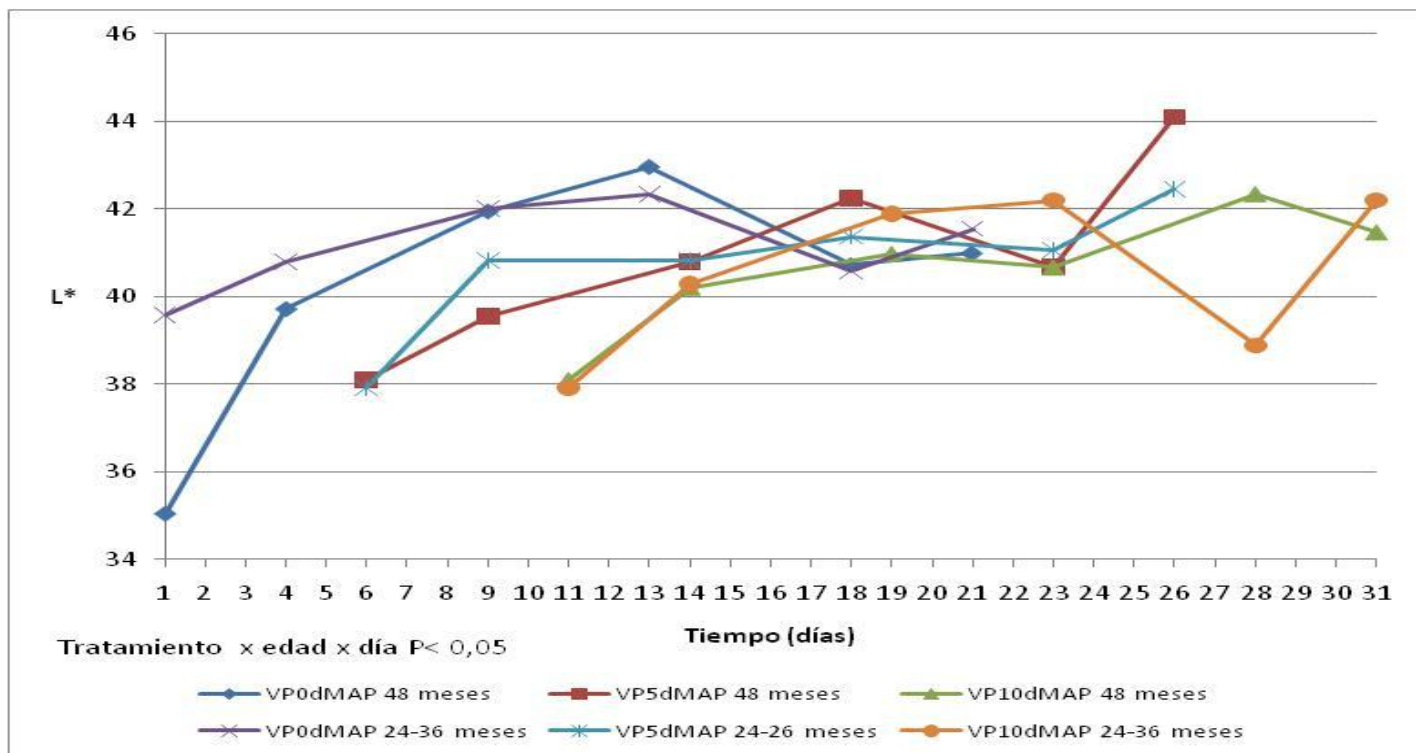


Gráfico No. 3 Comportamiento de L\* para carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío y dos edades de animales.

Con respecto a la variable colorimétrica b\*, según el análisis de varianza (anexo 4) hubo efecto tanto de la edad, el tiempo de maduración al vacío y el tiempo de empaque en MAP. En cuanto al tiempo de empaque en MAP hubo diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre el día 1 y todos los demás días, y entre el día 4 y los días 9 y 13 y entre el día 9 y el día 18; y entre el día 13 y los días 18 y 21, según la prueba de Bonferroni. Por otra parte al considerar la influencia de la edad también se hallaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los dos rangos de edades manejados en el estudio según la prueba de Bonferroni. Para el tiempo de maduración al vacío se presentaron diferencias significativas entre los tiempos 1 y 2 de 0 y 10 días respectivamente, así como para los tiempos 2 y 3, de 5 y 10 días respectivamente. A diferencia de lo anterior no se presentó diferencia significativa entre los tiempos de maduración 1 y 3, de 0 y 10 días respectivamente.

Para esta variable una vez aplicado el modelo estadístico los resultados mostraron que todas las interacciones entre los factores influyentes tuvieron efecto sobre el eje amarillo-azul (b\*).

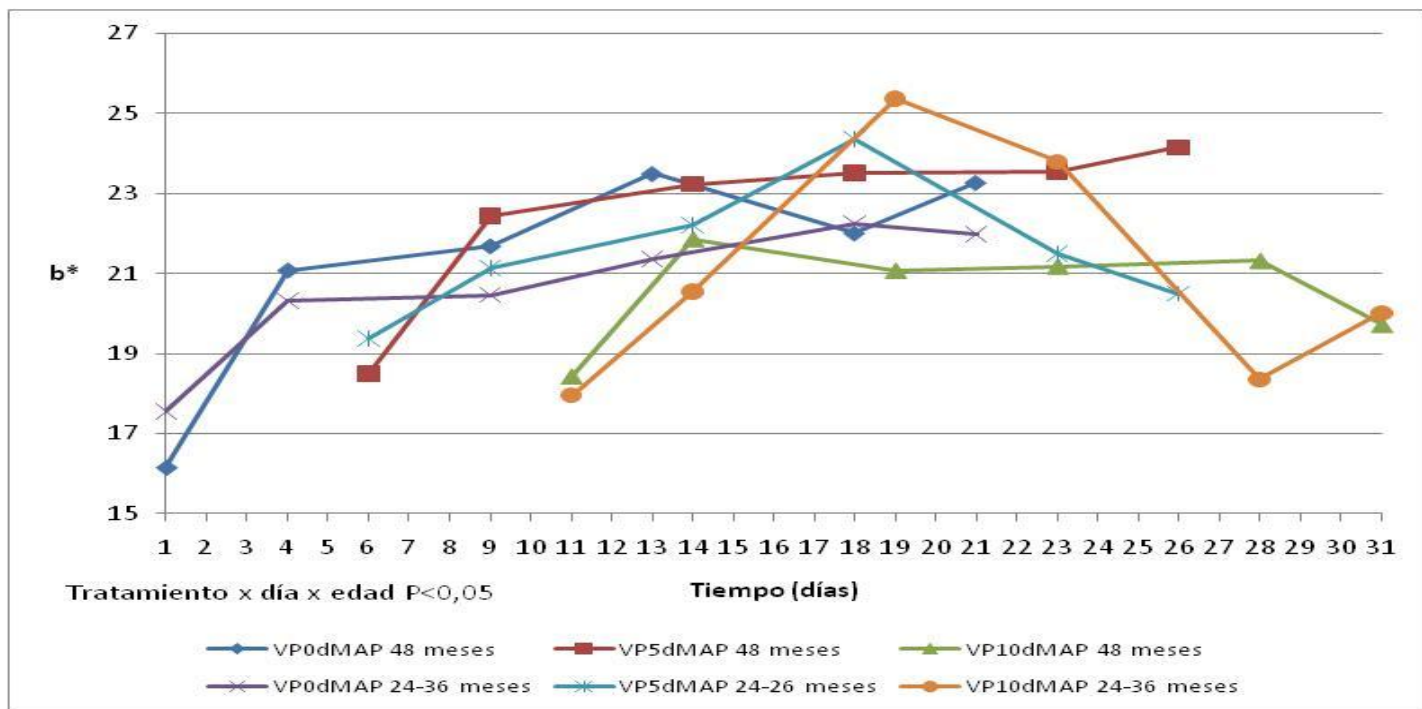


Gráfico No.4 Comportamiento de b\* para carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío y dos edades de animales.

Con respecto a la variable colorimétrica a\*, según el análisis de varianza (anexo 5), hubo efecto tanto de la edad, el tiempo de maduración al vacío y el tiempo de empaque en MAP. En cuanto al tiempo de empaque en MAP hubo diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre el día 1 y los días 4, 9, 13 y 21, y entre el día 4 y el día 18 y entre el día 9 y el día 18; y entre el día 13 y los días 18 y 21, según la prueba de Bonferroni. Por otra parte, al considerar la influencia de la edad también se hallaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los dos rangos de edades (24-36 meses y >48 meses) según la prueba de Bonferroni.

Para el tiempo de maduración al vacío se presentaron diferencias significativas entre los tiempos 1 y 2, de 0 y 10 días respectivamente, así como para los tiempos 2 y 3 de 5 y 10 días respectivamente. No se presentó diferencia significativa entre los tiempos de maduración 1 y 3, de 0 y 10 días respectivamente. En la investigación de John et al. (2005), donde almacenó tajadas de carne bovina cruda en 0.4% de monóxido de carbono por 21 días, se presentó una disminución de los valores de a\* hasta 14.9, mientras que en el presente trabajo se obtuvieron valores finales de 33.07, 35.71, y 27.04 para los 0, 5 y 10 días de empacado a vacío y posterior

almacenamiento en atmosfera modificada (animales de edad > 48 meses) y valores de 29.34, 29.45 y 26.95 para los 0, 5 y 10 días de empacado a vacío y posterior almacenamiento en atmósfera modificada (edad de 24-36 meses), siendo para ambos grupos valores muy superiores a los reportados para el día 21. Estas diferencias podrían atribuirse además de al tipo de ganados, a la composición específica de la atmósfera modificada, además del tipo de corte usado, que en el caso de John et al. (2005) fueron tajadas de “top sirloin” (corte sistema americano), frente a chatas en este caso específico.

Para esta variable, los resultados mostraron que todas las interacciones entre los factores influyentes tuvieron efecto sobre el eje rojo-verde (a\*).

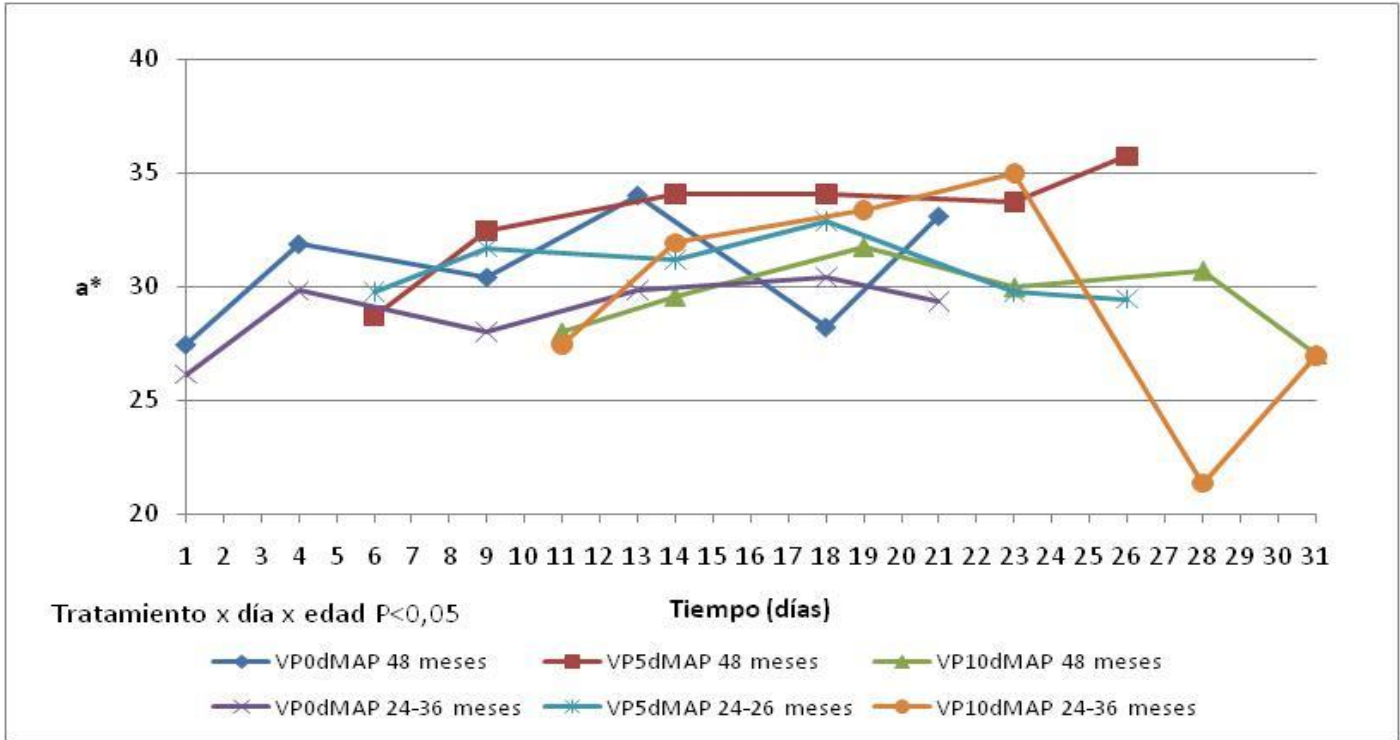


Gráfico No. 5 Comportamiento de a\* para carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío y dos edades de animales.

En términos de tono se presentaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre el día 1 y los días 4,9,13,18 y 21 y entre el día 4 y los días 9,18 y 21, entre el día 9 y 18, entre el día 13 y el 18 y finalmente entre el día 18 y 21 de empacado en MAP. La variable edad igualmente presento diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los dos grupos de edad (24-36 meses vs >48 meses). A

diferencia de otras variables colorimétricas, el tono solo presento diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los tiempos de maduración al vacío 2 y 3, de 5 y 10 días respectivamente, según la prueba de Bonferroni.

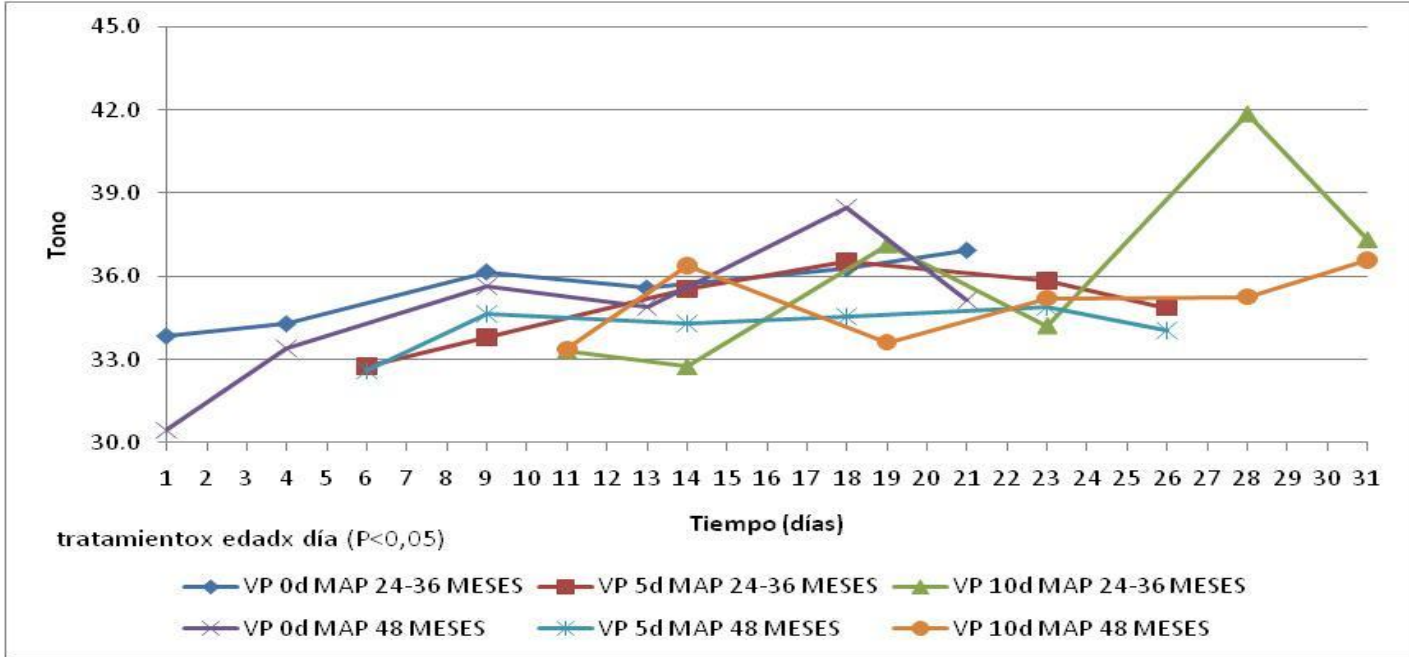


Gráfico No. 6 Comportamiento del tono para carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío y dos edades de animales.

Según el análisis estadístico (anexo 6), las interacciones día MAP x edad, día MAP x VP y día MAP x edad x VP mostraron efecto sobre el tono, mientras que la interacción edad x VP no presento efecto sobre el tono.

Según el análisis de varianza (anexo 7) se presento efecto de las variables edad, tiempo de maduración al vacío y tiempo de empacado en MAP sobre el índice de saturación (croma), presentando diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre el día 1 y los demás días de empacado en MAP, entre el día 4 y el día 13, entre el día 9 y 18, entre el día 13 y los días 18 y 21. Adicionalmente para edad (24-36 meses vs >48 meses) también se presentaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre el rango de edad 1 (24 a 36 meses) y el rango de edad 2 (48 meses). Para el tiempo de maduración al vacío se presentaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre los tiempos 1 y 2, de 0 y 10 días respectivamente, así como para los tiempos 2 y 3, de 5 y 10 días respectivamente. A diferencia de lo anterior no se presento diferencia significativa entre los tiempos de maduración 1 y 3, de 0 y 10 días respectivamente, todo lo anterior según la prueba de



Bonferroni. Con respecto al índice de saturación ( $C^*$ ), todas las interacciones entre los factores tuvieron efecto.

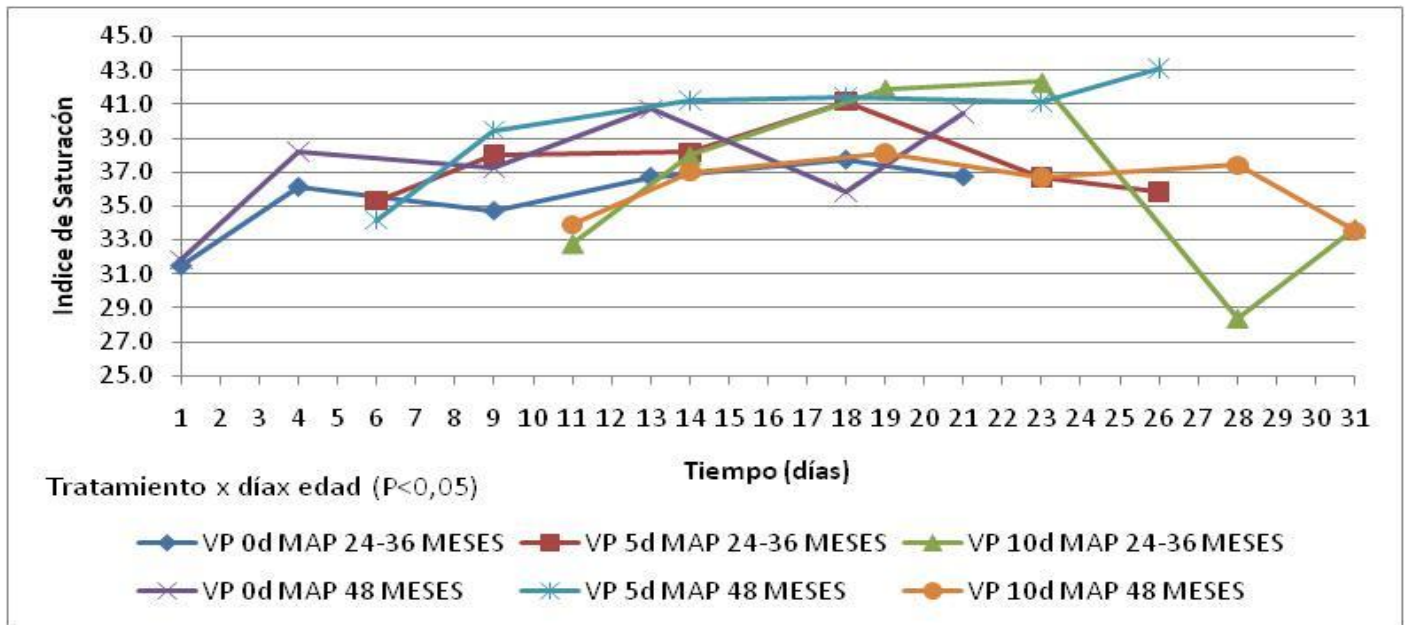


Gráfico No.7 Comportamiento del índice de saturación para carne empacada en MAP con respecto al tiempo para tres tratamientos de maduración al vacío y dos edades de animales.

Los efectos encontrados de la edad, el tiempo de maduración a vacío y el tiempo de empacado en MAP sobre  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , Croma, y tono confirman la afirmación de Bekhit y Faustman (2005), en el sentido de que la variación en el color de la carne depende de muchos factores intrínsecos, entre lo que están la edad del animal y el pH de la carne además de factores extrínsecos como disponibilidad de oxígeno y el tipo de empacado (vacío o MAP) entre otros. Jayasingh et al (2001) reportan que empaques de carne tajada y carne molida bovina en 0.5% de monóxido de carbono mejoraron la estabilidad del color, lo cual no se presentó en el presente trabajo ya que hubo efecto del tiempo de empacado en MAP sobre las variables colorimétricas, denotando una desestabilización del color con el tiempo.

Según Mancini y Hunt (2005), raramente se considera la carboxymioglobina en el triángulo del color formado entre deoxymioglobina, oxymioglobina y metamioglobina y desde el punto de vista de la ciencia de la carne se han realizado pocos trabajos para establecer la función del monóxido de carbono en la química básica de la mioglobina. La gran mayoría de los investigadores en

carnes se refieren a la formación de carboxymióglobina simplemente mencionando una fuerte afinidad de la deoxymióglobina por el monóxido de carbono, pero no se considera la estabilidad de la carboxymióglobina ni la dinámica que sufre con el tiempo y tan solo se afirma que el pigmento carboxy es estable. Pero esta estabilidad es crítica bajo condiciones de almacenamiento (refrigeración, condición de empaque y tiempo), tal como se demuestra por los efectos encontrados de tiempo de empaque en MAP sobre las variables colorimétricas en este trabajo, evidenciado en las diferencias significativas en términos de índice de croma entre el día 1 de empaque en MAP y los demás días de muestreo.

En la gráfica No. 8 se muestran las curvas espectrales para el % de reflectancia en el rango de longitud de onda de 400 a 700 nm, cada 10 nm.

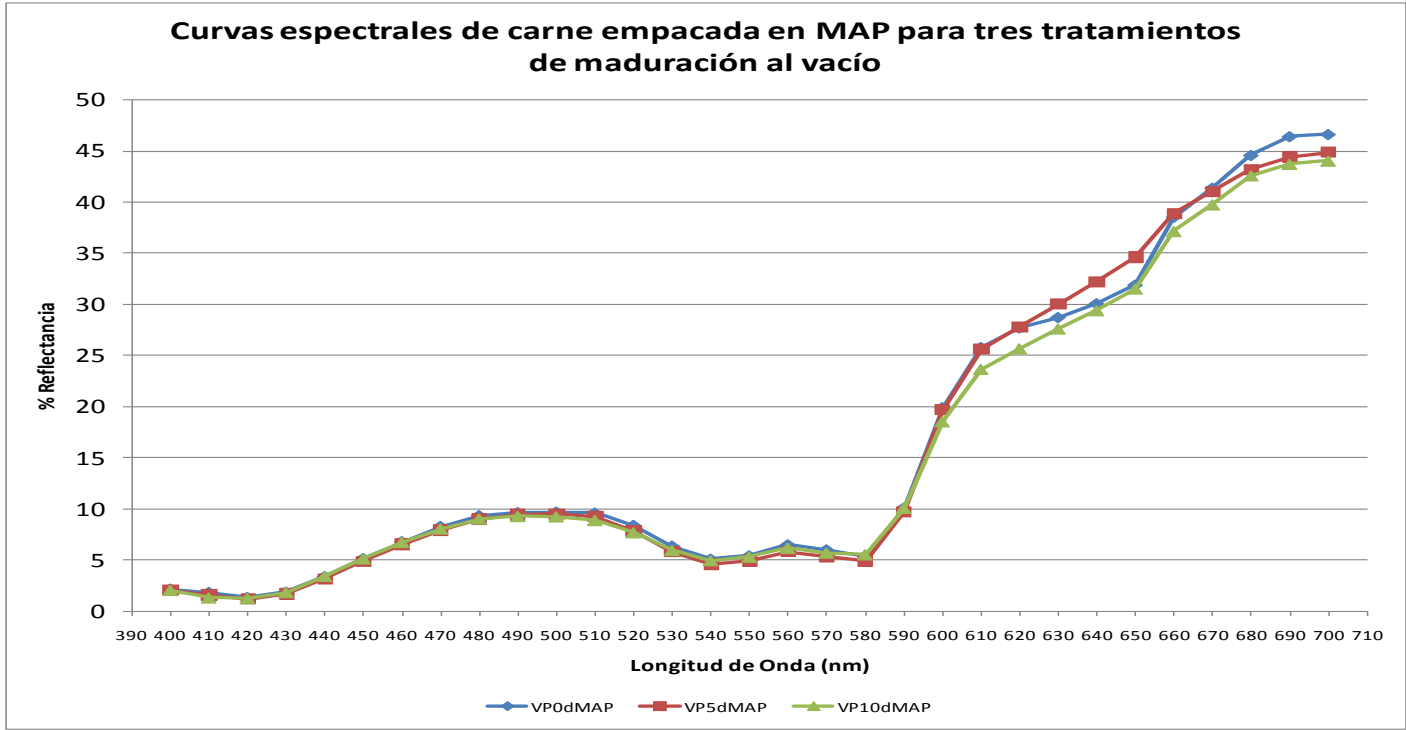


Gráfico No. 8 Curvas espectrales de carne empacada en MAP para tres tratamientos de maduración al vacío.

El comportamiento microbiológico (resultados anexo 8) a través del tiempo presento recuentos dentro de los límites permitidos, solamente presento crecimiento de coliformes totales por fuera de la norma el tratamiento de 10 días de maduración al vacío y 21 días de empaque en MAP para ambos grupos de edades (edad 24 – 36 meses,  $1,07 \times 10^3$  UFC/g y edad >48 meses,  $1,56 \times 10^3$

UFC/g), para este mismo tratamiento y día los recuentos de psicofilos estuvieron en el orden de  $10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> (edad 24 – 36 meses,  $5,80 \times 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> y edad >48 meses,  $6,00 \times 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>).

#### 4. CONCLUSIONES

El empaçado a vacío de Longissimus dorsi, corte comercialmente denominado "chatas", procedente de bovinos cebú mantenido en condiciones de refrigeración por 0, 5 y 10 días y posteriormente empaçado en condición de atmósfera modificada con composición gaseosa 30%CO<sub>2</sub>, 0.5% CO y 69.5% N<sub>2</sub> y almacenado a 2°C +/- 2°C durante 21 días resulta en desestabilización del comportamiento del color, sin embargo, presenta valores más altos en a\* (entre 33.07 y 27.04 para la edad de 48 meses y entre 29.34 y 26.95 para la edad de 24-36 meses) para todos los grupos estudiados (0, 5 y 10 días de empaçado a vacío) con respecto a lo reportado para carne bovina cruda solo con almacenamiento en atmósfera modificada con 0.5% de CO (14.9).

Al empaçar carne de bovinos de raza cebú con edades entre 24 y 48 meses en condición de atmósfera modificada, que ha sido previamente almacenada y empaçada al vacío a 2°C durante 5 y 10 días se obtiene disminución en la fuerza de corte de 6,66 kg (dura: >4,68 kg) a 3,94 kg (intermedia: 3,83 kg-4,68 kg), sin embargo con 10 días de maduración al vacío se obtiene un resultado similar en terneza pero se pone en riesgo la vida útil del producto alcanzando valores de 10<sup>4</sup> para bacterias psicrófilas.

## BIBLIOGRAFIA

ÁLVAREZ, M.; MOREIRA DOS SANTOS, W. 2005. Evaluación de la ternera del bife angosto (musculo longissimus dorsi) de novillos tipo Nelore de diferentes edades. Rev. Vet. 16: 2,57- 60.

ÁLVAREZ, M.; MOREIRA DOS SANTOS, W. Evaluacion de la ternera del bife angosto (musculo longissimus dorsi) de bovinos machos castrados mestizos Nelore. Consultado en: <http://www.unne.edu.ar/web/cyt/cyt/2001/4-veterinaria/v-026.pdf>

AMERICAN MEAT INSTITUTE. 2007. Case Ready Meats Modified Atmosphere Packaging. Fact Sheet March 1-3.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. 1991. Guidelines for Meat Color Evaluation, proceedings of the reciprocal meat conference. Volume 44 pp 9.

BAYLISS, P. 1995 Chemistry in the kitchen: the chemistry of flesh foods II. Nutrition and Food Science 2:21-26.

BEKHIT, A.; FAUSTMAN, C. 2005. Metmyoglobin reducing activity.71: 407-439.

BERTOLA, N. C., A. E. BEVILACQUA Y N. E. ZARITZKY. 1994. Heat treatment effect on texture changes and thermal denaturation of proteins in beef muscle. Journal of Food Processing and Preservation. 18(1):32.

BRAD, M. 2003. Extending shelf-life of beef cuts utilizing low level carbon monoxide in modified atmosphere packaging systems project summary. Prepared on behalf of de cattlemen's beef board by national cattlemen's beef association center for research & knowledge management, Oklahoma state University. Bulletin 1-4.

BRODY A.L. Envasado de los alimentos en atmósferas controladas, modificadas y al vacío. Zaragoza. 1996. Ed. Acribia pp 28.

CAMPO, M.; SANUDO, C.; PANEA, B.; ALBERTI, P.; SANTOLARIA, P. 1999. Breed type and ageing time effects on sensory characteristics of beef strip loin steaks. Meat Science 51 (4): 383-390.

COLOMBIA: INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS (INVIMA). 1998. Manual de técnicas de análisis para el control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Bogotá D.C.

EPLEY, R.J. 1992. Meat Tenderness (en línea). Consultado 27 agosto de 2009. Disponible en <http://extension.umn.edu/documents/D/J/DJ0856.html>

EUROPEAN COMMISSION, HEALTH AND CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL. 2001. Opinion of the scientific comite on food on the use of carbon monoxide as

component of packaging gases in modified atmosphere packaging for fresh meat. Brussels - Belgium.

HONIKEL K. 1998. Reference Methods for the Assessment of Physical Characteristics of Meat. Federal Centre for Meat Research, Kulmbach, Germany.

HUFF, E.; PARRISH, F. 1993. Bovine longissimus muscle tenderness as affected by postmortem aging time, animal age and sex. *Journal of Food Science*. 58(4):713.

HONIKEL, K. 1998. Reference methods for the Assessment of physical Characteristics of Meat. *Meat Science* 49(4): 447-457.

JEREMIAH, L.; BEAUCHEMIN, K.; JONES, S.; GIBSON, L.; RODE, L. 1998. The influence of dietary cereal grain source and feed enzymes on the cooking properties and palatability attributes of beef. *Canadian Journal of Animal Science* 78(3): 271-275.

JOHN L.; CARPENTER C.; SORHEIM O.; PETTE B.; WHITTIER D. 2005. Color and thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in modified atmospheres of 80% oxygen, 0.4% carbon monoxide, or vacuum. *Meat science* 69: 441-449.

KOOHMARAIE, M. 1992. Effect of pH, temperature, and inhibitors on autolysis and catalytic activity of bovine skeletal muscle  $\mu$ -calpain1 ,2. *Journal of Animal Science*. 70:3071-3080.

KOOHMARAIE, M 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science* 36 (1/2): 93-104

KOOHMARAIE, M. 1988. The role of endogenous proteases in meat tenderness. *Reciprocal Meat Conference Proceedings*. 41:89.

KOOHMARAIE, M.; SEIDEMAN, S.; SCHOLLMAYER, J.; DUTSON, T.; BABIKER, A. 1988. Factors associated with the tenderness of three bovine muscles. *Journal of Food Science*. 53(2):409.

LUÑO, M.; RONCALEAS, P.; DJENANE, D.; BELTRAN. J. 2000. Beef shelf life in low O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub> atmospheres containing diferent low CO concentrations. 55: 413-419.

MANCINI, R.; HUNT, M. 2005. Current research in meat color. 71: 100-121

MORGAN, J.; SAVELL, J.; HALE, D.; MILLER, R.; GRIFFIN, D.; CROSS, H.; SHACKELFORD, S. 1991. National Beef Tenderness Survey. *Journal of Animal Science*. 69:3274-3280.

NISHIMURA, T.; HATTORI, A.; KATAHASHI, K. 1999. Structural changes in intramuscular connective tissue during the fattening of japonese black cattle: effect of marbling on beef tenderization. *Journal or animal science* 77:93-104.

OUALI, A. 1990 meat tenderization: possible causes end mechanisms. *Journal of Muscle foods* 1(2): 129-165

OUALI, A.; HERRERA-MENDEZ, C.; COULIS G.; BECILA S.; BOUDJELLAL A. B, AUBRY L; SENTANDREU M. 2006 Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science* 74: 44-58

PARRY R.T. 1995. *Envasado de los alimentos en atmósfera modificada*. Zaragoza. Vicente Ediciones. pp 305

PEARSON, A. M. Y R. B. YOUNG. 1989. *Muscle and meat biochemistry*. Academic Press, Inc. 395.

JAYASINGH, P.; CORNFORTH, D.; CARPENTER, C.; WHITTIER, D. 2001. Evaluation of monoxide treatment in modified atmosphere packaging or vacuum packaging to increase color stability of fresh beef. *Meat Science* 59: 317-324

PROST, E.; PELCZYNSKA, E. KOTULA, A. 1975. Quality characteristics of bovine meat, beef tenderness in relation to individual muscle, age and sex of animals and carcass quality grade. *Journal of Animal Science*. 41(2):541.

SENTANDREU, M.; COULIS, G.; OUALI, A. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Science and Technology*, 13(12), 400–421.

SHACKELFORD, S.; WHEELER, T.; KOOHMARAIE, M. Tenderness classification the beef: evaluation of beef longissimus shear force at 1 or 2 days postmortem as a predictor of aged beef tenderness. *Journal of Animal Science*. From [www.jas.fass.org](http://www.jas.fass.org) (consultado agosto 26 de 2009).

SIMMONS, N.; YOUNG, O.; DOBBIE, P.; SINGH, K.; THOMPSON, B.; SPECK, P.A. 1997. Post-mortem calpain system kinetics in lamb: effects of clenbuterol and pre-slaughter exercise. *Meat Science* 47(1/2): 135-146.

SINCLAIR, K.; CUTHBERTSON, A.; RUTTER, A.; FRANKLIN, M. 1998. The effects age at slaughter, genotype and finishing system on the organoleptic properties and texture of bull beef from beef from suckled calves. *Animal Science* 66(2): 329-340.

SMITH, G.; SAVELL, J.; DOLEZAL, H.; FIELD, T.; GILL, D.; GRIFFIN, D.; HALE, S.; MORGAN, J.; NORTHCUTT, L. TATUM, J. 1995. *The final Report of the National Beef Quality Audit 1995*.

SORHEIM, O.; WESTAD, F.; LARSEN, H.; ALVSEIKE, O. 2009. Colour of ground beef as influenced by raw materials, addition of sodium chloride and low oxygen packaging 81467-473

SUZUKI, K.; SORIMACHI, H. 1998. A novel aspects of calpain activation. *FEBS Letters* 433: 1-4

TAYLOR, R.; KOOHMARAIE, M. 1998. Effects of postmortem storage on the ultrastructure of the endomysium and myofibrils in normal and callipyge longissimus. *Journal of Animal Science* 76: 2811-2817.

THE AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. 2008. Low-Oxygen Packaging of Fresh Meat with Carbon Monoxide , Meat Quality, Microbiology and Safety, White paper series Number 2, January.

VOISINET, B.; GRANDIN, T.; O'CONNOR, S.; TATUM, J.; DEESING, M. Bos indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. Meat Science 46(4): 367-377.

WHEELER, T; KOOHMARAIE, V. 1994. Pre rigor and post rigor changes in tenderness of ovine *longissimus* muscle. Journal of Animal Science. 72:1232-1238.

WHEELER, T. ; SAVELL, J.; CROSS, H.;LUNT, D.;SMITH, S. Effect of postmortem treatments on the tenderness of meat from Hereford, Brahman and Brahman-cross beef cattle. Journal of Animal Science. From [www.jas.fass.org](http://www.jas.fass.org) (consultado agosto 26 de 2009).

WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M.; DIKEMAN, M.; CROUSE, J.; HUNT, M.; KLEMM, R. 1990. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. Journal of Animal Science. 68:2721-2722. 66

WILKINSON B.H.P. ; JANZ J.A.M. ; MOREL P.C.H. ; PURCHAS R.W. and HENDRIKS W.H. 2006. The effect of modified atmosphere packaging with carbon monoxide on the storage quality of master-packaged fresh pork. Meat science **73**: 605-610.

YU, L.; LEE, Y. 1986. Effects of postmortem pH and temperature on bovine muscle structure and meat tenderness. Journal of Food Science. 51(3): 774-780.



## ANEXO 1

### ANÁLISIS DE VARIANZA PARA FUERZA DE CORTE

#### ANOVA MULTIFACTOR FUERZA DE CORTE WB (kg)

Variable dependiente: FUERZA DE CORTE (kg)

Factor: DIA MAP

EDAD

VP

Numero de

observaciones: 511

Análisis de varianza para fuerza de corte WB – Tipo III suma de cuadrados

<i>Fuente de Variación</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F<sub>0</sub></i>	<i>Valor P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:DIA MAP	113.084	5	22.6167	8.14	0.0000
B:EDAD	11.8988	1	11.8988	4.28	0.0391
C:VP	107.829	2	53.9146	19.40	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	10.8376	5	2.16753	0.78	0.5644
AC	262.426	10	26.2426	9.44	0.0000
BC	35.7515	2	17.8758	6.43	0.0018
ABC	62.5886	10	6.25886	2.25	0.0142
RESIDUAL	1319.94	475	2.77882		
TOTAL (CORREGIDO)	1912.9	510			

#### Test de rangos múltiples para fuerza de corte por día MAP

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

<i>DIA MAP</i>	<i>Conteo</i>	<i>LS Media</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
21	77	5.11658	0.190426	x
9	90	5.14153	0.176267	x
18	83	5.25177	0.184017	x
1	80	5.56838	0.192385	x
13	90	5.57886	0.176735	x
4	91	6.48293	0.177802	x

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/-Límites</i>
1 - 4	*	-0.914548	0.828355
1 - 9		0.42685	0.82507
1 - 13		-0.0104831	0.826069
1 - 18		0.316613	0.841818
1 - 21		0.451802	0.855951
4 - 9	*	1.3414	0.791683
4 - 13	*	0.904065	0.792725
4 - 18	*	1.23116	0.809123
4 - 21	*	1.36635	0.823817
9 - 13		-0.437333	0.789291
9 - 18		-0.110237	0.805759
9 - 21		0.0249522	0.820513
13 - 18		0.327096	0.806782
13 - 21		0.462285	0.821519
18 - 21		0.135189	0.837353

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

#### Test de rangos múltiples para fuerza de corte por Edad

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

<i>EDAD</i>	<i>Conteo</i>	<i>LS Media</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
-------------	---------------	-----------------	-----------------	--------------------------

48 MESES	255	5.3687	0.105077	x
24-36 MESES	256	5.67798	0.106293	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
24-36 MESES - 48 MESES		0.348343	0.365139

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

#### Test de rangos múltiples para fuerza de corte por VP

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

VP	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
VP 10d MAP	154	4.93659	0.148319	x
VP 5d MAP	184	5.69294	0.135395	x
VP 0d MAP	173	5.97163	0.139555	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
VP 0d MAP - VP 10d MAP	*	1.13219	0.4951
VP 0d MAP - VP 5d MAP		0.302163	0.470865
VP 10d MAP - VP 5d MAP	*	-0.830031	0.488646

## ANEXO 2 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA pH

### ANOVA MULTIFACTOR pH

Variable dependiente: pH

Factor: DIA MAP

EDAD

VP

Numero de observaciones: 972

Análisis de varianza para pH – Tipo III suma de cuadrados

<i>Fuente de Variación</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F<sub>0</sub></i>	<i>Valor P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:DIA MAP	0.718485	5	0.143697	18.51	0.0000
B:EDAD	0.0488396	1	0.0488396	6.29	0.0121
C:VP	0.496106	2	0.248053	31.95	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	0.142644	5	0.0285287	3.67	0.0027
AC	1.38061	10	0.138061	17.78	0.0000
BC	0.368205	2	0.184103	23.72	0.0000
ABC	0.0867949	10	0.00867949	1.12	0.3451
RESIDUAL	7.26626	936	0.0077631		
TOTAL (CORRECTED)	10.5079	971			

### Test de rangos múltiples para pH por día MAP

Método: Tukey HSD 95.0 por ciento

<i>DIA MAP</i>	<i>Conteo</i>	<i>LS Media</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
4	162	5.46389	0.00769788	X
1	162	5.48648	0.00769788	XX
9	162	5.50864	0.00769788	XX
18	162	5.52617	0.00769788	XX
13	162	5.52846	0.00769788	XX
21	162	5.54395	0.00769788	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/-Límites</i>
1 – 4		0.0225926	0.0310825
1 – 9		-0.0221605	0.0310825
1 – 13	*	-0.0419753	0.0310825
1 – 18	*	-0.0396914	0.0310825
1 – 21	*	-0.0574691	0.0310825
4 – 9	*	-0.0447531	0.0310825
4 – 13	*	-0.0645679	0.0310825
4 – 18	*	-0.062284	0.0310825
4 – 21	*	-0.0800617	0.0310825
9 – 13		-0.0198148	0.0310825
9 – 18		-0.0175309	0.0310825
9 – 21	*	-0.0353086	0.0310825
13 – 18		0.00228395	0.0310825
13 – 21		-0.0154938	0.0310825
18 – 21		-0.0177778	0.0310825

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

### Test de rangos múltiples para pH por Edad

Método: Tukey HSD 95.0 por ciento

EDAD	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
48 MESES	486	5.50251	0.00444438	x
24-36 MESES	486	5.51669	0.00444438	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
24-36 MESES - 48 MESES	*	-0.014177	0.012319

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

### Test de rangos múltiples para pH por VP

Método: Tukey HSD 95.0 por ciento

VP	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
VP 10d MAP	324	5.48414	0.0054432	x
VP 5d MAP	324	5.50562	0.0054432	x
VP 0d MAP	324	5.53904	0.0054432	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
VP 0d MAP - VP 10d MAP	*	-0.0214815	0.0180686
VP 0d MAP - VP 5d MAP	*	-0.0549074	0.0180686
VP 10d MAP - VP 5d MAP	*	-0.0334259	0.0180686

## ANEXO 3 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA COORDENADA L\*

### ANOVA MULTIFACTOR COORDENADA L\*

Variable dependiente: L\*

Factor: DIA MAP

EDAD

VP

Numero de observaciones: 912

Análisis de varianza para L\* – Tipo III suma de cuadrados

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F <sub>0</sub>	Valor P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:DIA MAP	2055.06	5	411.012	50.66	0.0000
B:EDAD	8.63872	1	8.63872	1.06	0.3021
C:VP	6.33498	2	3.16749	0.39	0.6769
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	110.848	5	22.1697	2.73	0.0185
AC	181.828	10	18.1828	2.24	0.0140
BC	46.8573	2	23.4287	2.89	0.0562
ABC	410.38	10	41.038	5.06	0.0000
RESIDUAL	7107.63	876	8.11373		
TOTAL (CORREGIDO)	9964.57	911			

### Test de rangos múltiples para L\* por día MAP

Método: Bonferroni95.0 por ciento

DIA MAP	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
1	151	37.7093	0.232768	x
4	141	40.1969	0.243876	x
18	162	40.7104	0.223796	xx
9	142	41.4249	0.241952	xx
13	154	42.056	0.230516	x
21	162	42.1231	0.223796	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
1 - 4	*	-2.48762	1.05993
1 - 9	*	-3.71561	1.05556
1 - 13	*	-4.3467	1.02995
1 - 18	*	-3.00116	1.0152
1 - 21	*	-4.41382	1.0152
4 - 9	*	-1.22799	1.08007
4 - 13	*	-1.85907	1.05506
4 - 18		-0.513542	1.04066
4 - 21	*	-1.9262	1.04066
9 - 13		-0.631082	1.05067
9 - 18		0.714452	1.03621
9 - 21		-0.698203	1.03621
13 - 18	*	1.34553	1.01011
13 - 21		-0.067121	1.01011
18 - 21	*	-1.41265	0.995058

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

**Test de rangos múltiples para L\* por Edad**

Método: Bonferroni95.0 por ciento

<i>EDAD</i>	<i>Conteo</i>	<i>LS Media</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
48 MESES	453	40.6053	0.13516	x
24-36 MESES	459	40.8015	0.133786	x

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/-Límites</i>
24-36 MESES - 48 MESES		0.196233	0.196233

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

**Test de rangos múltiples para L\* por VP**

Método: Bonferroni95.0 por ciento

<i>VP</i>	<i>Conteo</i>	<i>LS Media</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
VP 10d MAP	301	40.6291	0.166003	x
VP 0d MAP	312	40.6595	0.161972	x
VP 5d MAP	299	40.8217	0.166085	x

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/-Límites</i>
VP 0d MAP - VP 10d MAP		0.0303297	0.611894
VP 0d MAP - VP 5d MAP		-0.162208	0.612049
VP 10d MAP - VP 5d MAP		-0.192537	0.619521

**ANEXO 4**  
**ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA COORDENADA b\***

**ANOVA MULTIFACTOR COORDENADA b\***

Variable dependiente: **b\***

Factor: DIA MAP

EDAD

VP

Numero de observaciones: 912

Análisis de varianza para **b\***– Tipo III suma de cuadrados

<i>Fuente de Variación</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F<sub>0</sub></i>	<i>Valor P</i>
<b>EFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:DIA MAP	2199.42	5	439.884	95.54	0.0000
B:EDAD	43.7316	1	43.7316	9.50	0.0021
C:VP	251.349	2	125.675	27.29	0.0000
<b>INTERACTIONS</b>					
AB	234.237	5	46.8475	10.17	0.0000
AC	550.024	10	55.0024	11.95	0.0000
BC	79.5888	2	39.7944	8.64	0.0002
ABC	502.427	10	50.2427	10.91	0.0000
RESIDUAL	4033.4	876	4.60434		
TOTAL (CORRECTED)	8016.0	911			

**Test de rangos múltiples para b\* por día MAP**

Método: Bonferroni95.0 por ciento

<i>DIA MAP</i>	<i>Conteo</i>	<i>LS Media</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	151	18.0034	0.175346	X
4	141	21.2428	0.183714	X
18	162	21.4951	0.168588	X
21	162	21.5935	0.168588	XX
9	142	22.333	0.182264	XX
13	154	22.9276	0.17365	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/-Límites</i>
1 - 4	*	-3.2394	0.798456
1 - 9	*	-4.32961	0.795165
1 - 13	*	-4.92427	0.775874
1 - 18	*	-3.49177	0.764759
1 - 21	*	-3.59016	0.764759
4 - 9	*	-1.09021	0.813626
4 - 13	*	-1.68488	0.794783
4 - 18		-0.252369	0.783936
4 - 21		-0.350764	0.783936
9 - 13		-0.594665	0.791476
9 - 18	*	0.837841	0.780584
9 - 21		0.739446	0.780584
13 - 18	*	1.43251	0.760923
13 - 21	*	1.33411	0.760923
18 - 21		-0.0983951	0.749586

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

**Test de rangos múltiples para b\* por Edad**

Método: Bonferroni95.0 por ciento

EDAD	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
24-36 MESES	459	21.0415	0.114824	X
48 MESES	453	21.4668	0.115573	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
24-36 MESES - 48 MESES	*	-0.425326	0.365001

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

**Test de rangos múltiples para b\* por VP**

Método: Bonferroni95.0 por ciento

VP	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
VP 10d MAP	301	20.7897	0.14203	X
VP 0d MAP	312	20.9542	0.139193	X
VP 5d MAP	299	22.0185	0.142313	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
VP 0d MAP - VP 10d MAP		0.16455	0.524937
VP 0d MAP - VP 5d MAP	*	-1.0643	0.524995
VP 10d MAP - VP 5d MAP	*	-1.22885	0.530559



## ANEXO 5 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA COORDENADA a\*

### ANOVA MULTIFACTOR a\*

Variable dependiente: a\*

Factor: DIA MAP

EDAD

VP

Numero de observaciones: 912

Análisis de varianza para a\* – Tipo III suma de cuadrados

<i>Fuente de Variación</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Cuadrado medio</i>	<i>F<sub>0</sub></i>	<i>Valor P</i>
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:DIA MAP	2168.07	5	433.613	36.44	0.0000
B:EDAD	487.997	1	487.997	41.01	0.0000
C:VP	1070.33	2	535.165	44.97	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	536.772	5	107.354	9.02	0.0000
AC	1317.27	10	131.727	11.07	0.0000
BC	175.561	2	87.7805	7.38	0.0007
ABC	1777.5	10	177.75	14.94	0.0000
RESIDUAL	10424.7	876	11.9004		
TOTAL (CORREGIDO)	18126.1	911			

### Test de rangos múltiples para a\* por día MAP

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

<i>DIA MAP</i>	<i>Conteo</i>	<i>LS Media</i>	<i>LS Sigma</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	151	27.9347	0.281899	X
18	162	29.0165	0.271033	X
21	162	30.263	0.271033	X
4	141	31.235	0.295352	X
9	142	31.4138	0.293021	XX
13	154	32.5539	0.279171	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/-Límites</i>
1 - 4	*	-3.30025	1.28365
1 - 9	*	-3.47908	1.27836
1 - 13	*	-4.61922	1.24735
1 - 18		-1.08182	1.22948
1 - 21	*	-2.3283	1.22948
4 - 9		-0.178828	1.30804
4 - 13	*	-1.31897	1.27775
4 - 18	*	2.21843	1.26031
4 - 21		0.971951	1.26031
9 - 13		-1.14014	1.27243
9 - 18	*	2.39726	1.25492
9 - 21		1.15078	1.25492
13 - 18	*	3.5374	1.22331
13 - 21	*	2.29092	1.22331
18 - 21	*	-1.24648	1.20509

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

**Test de rangos múltiples para a\* por Edad**

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

EDAD	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
24-36 MESES	459	29.6654	0.162025	x
48 MESES	453	31.1403	0.163689	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
24-36 MESES - 48 MESES	*	-1.47488	0.516235

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

**Test de rangos múltiples para a\* por VP**

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

VP	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
VP 10d MAP	301	29.4518	0.201042	x
VP 0d MAP	312	29.8145	0.19616	x
VP 5d MAP	299	31.9422	0.201141	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
VP 0d MAP - VP 10d MAP		0.362651	0.741048
VP 0d MAP - VP 5d MAP	*	-2.12778	0.741235
VP 10d MAP - VP 5d MAP	*	-2.49043	0.750285

## ANEXO 6 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA TONO

### ANOVA MULTIFACTOR Tono

Variable dependiente: Tono

Factor: DIA MAP

EDAD

VP

Numero de observaciones: 912

Análisis de varianza para Tono – Tipo III suma de cuadrados

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F <sub>0</sub>	Valor P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:DIA MAP	1696.11	5	339.221	62.08	0.0000
B:EDAD	167.814	1	167.814	30.71	0.0000
C:VP	164.711	2	82.3554	15.07	0.0000
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	213.755	5	42.751	7.82	0.0000
AC	362.417	10	36.2417	6.63	0.0000
BC	3.57237	2	1.78618	0.33	0.7213
ABC	871.323	10	87.1323	15.95	0.0000
RESIDUAL	4786.88	876	5.46448		
TOTAL (CORREGIDO)	8341.81	911			

### Test de rangos múltiples para Tono por día MAP

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

DIA MAP	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
1	151	32.7324	0.191024	x
4	141	34.2129	0.20014	x
13	154	35.165	0.189175	x
9	142	35.3997	0.19856	x
21	162	35.8201	0.183661	x
18	162	37.107	0.183661	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
1 - 4	*	-1.48048	0.869845
1 - 9	*	-2.66729	0.86626
1 - 13	*	-2.43259	0.845244
1 - 18	*	-4.37461	0.833135
1 - 21	*	-3.08772	0.833135
4 - 9	*	-1.18681	0.886371
4 - 13	*	-0.952112	0.865843
4 - 18	*	-2.89413	0.854027
4 - 21	*	-1.60725	0.854027
9 - 13		0.2347	0.862241
9 - 18	*	-1.70732	0.850375
9 - 21		-0.420434	0.850375
13 - 18	*	-1.94202	0.828956
13 - 21		-0.655133	0.828956
18 - 21	*	1.28688	0.816606

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

**Test de rangos múltiples para Tono por Edad**

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

EDAD	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
48 MESES	453	34.6404	0.110921	x
24-36 MESES	459	35.5053	0.109793	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
24-36 MESES - 48 MESES	*	0.864891	0.349818

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

**Test de rangos múltiples para Tono por VP**

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

VP	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
VP 5d MAP	299	34.5331	0.136299	x
VP 0d MAP	312	35.0951	0.132924	x
VP 10d MAP	301	35.5904	0.136232	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
VP 0d MAP - VP 10d MAP		-0.495293	0.502158
VP 0d MAP - VP 5d MAP	*	0.562001	0.502285
VP 10d MAP - VP 5d MAP	*	1.05729	0.508417

## ANEXO 7 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL ÍNDICE DE SATURACION

### ANOVA MULTIFACTOR Índice de saturación

Variable dependiente: Índice de saturación

Factor: DIA MAP  
EDAD  
VP

Numero de observaciones: 912

Análisis de varianza para Índice de saturación – Tipo III suma de cuadrados

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F <sub>0</sub>	Valor P
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A:DIA MAP	3863.17	5	772.635	52.75	0.0000
B:EDAD	464.244	1	464.244	31.70	0.0000
C:VP	1254.89	2	627.444	42.84	0.0000
<b>INTERACTIONS</b>					
AB	667.533	5	133.507	9.11	0.0000
AC	1727.85	10	172.785	11.80	0.0000
BC	268.636	2	134.318	9.17	0.0001
ABC	1969.56	10	196.956	13.45	0.0000
RESIDUAL	12830.9	876	14.6472		
TOTAL (CORRECTED)	23313.0	911			

### Test de rangos múltiples para Índice de saturación por día MAP

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

DIA MAP	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
1	151	33.2503	0.312745	x
18	162	36.1851	0.30069	x
21	162	37.2238	0.30069	xx
4	141	37.795	0.327669	x
9	142	38.5679	0.325084	xx
13	154	39.834	0.309718	x

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
1 - 4	*	-4.54468	1.42411
1 - 9	*	-5.3176	1.41824
1 - 13	*	-6.58367	1.38384
1 - 18	*	-2.93474	1.36401
1 - 21	*	-3.97348	1.36401
4 - 9		-0.772919	1.45117
4 - 13	*	-2.03899	1.41756
4 - 18	*	1.60994	1.39821
4 - 21		0.571197	1.39821
9 - 13		-1.26607	1.41166
9 - 18	*	2.38286	1.39224
9 - 21		1.34412	1.39224
13 - 18	*	3.64893	1.35717
13 - 21	*	2.61018	1.35717
18 - 21		-1.03875	1.33695

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

**Test de rangos múltiples para Índice de saturación por Edad**

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

EDAD	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
24-36 MESES	459	36.4234	0.179754	×
48 MESES	453	37.862	0.1816	×

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
24-36 MESES - 48 MESES	*	-1.43853	0.572722

\* Indica diferencia estadísticamente significativa.

**Test de rangos múltiples para Índice de saturación por VP**

Método: Bonferroni 95.0 por ciento

VP	Conteo	LS Media	LS Sigma	Grupos Homogéneos
VP 10d MAP	301	36.1357	0.22304	×
VP 0d MAP	312	36.4796	0.217624	×
VP 5d MAP	299	38.8128	0.22315	×

Contraste	Sig.	Diferencia	+/-Límites
VP 0d MAP - VP 10d MAP		0.343819	0.822135
VP 0d MAP - VP 5d MAP	*	-2.33326	0.822342
VP 10d MAP - VP 5d MAP	*	-2.67708	0.832382

## ANEXO 8 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

Valores promedios de las variables microbiológicas estudiadas (coliformes totales, *E. coli*, ECSR, *Estafilococo coagulasa positiva*, psicofilos, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella*)

Coliformes totales UFC/g							
EDAD	VP	DIA MAP					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	<10	<10	<10	<10	37	43
	VP 5d MAP	<10	<10	<10	40	10	583
	VP 10d MAP	<10	<10	10	10	170	1070
24 - 36 meses	VP 0d MAP	<10	<10	<10	10	87	57
	VP 5d MAP	<10	<10	<10	17	<10	900
	VP 10d MAP	<10	13	<10	10	373	1560
E. coli UFC/g							
EDAD	VP	DIA MAP					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	VP 5d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	VP 10d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
24 - 36 meses	VP 0d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	VP 5d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	VP 10d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
ECSR UFC/g							
EDAD	VP	DIA MAP					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	VP 5d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	VP 10d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
24 - 36 meses	VP 0d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	VP 5d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
	VP 10d MAP	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Estafilococo coagulasa + ufc/g							
EDAD	VP	DIA MAP					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	<100	<100	<100	<100	<100	<100
	VP 5d MAP	<100	<100	<100	<100	<100	<100
	VP 10d MAP	<100	<100	<100	<100	<100	<100
24 - 36 meses	VP 0d MAP	<100	<100	<100	<100	<100	<100
	VP 5d MAP	<100	<100	<100	<100	<100	<100
	VP 10d MAP	<100	<100	<100	<100	<100	<100
Psicofilos superficie UFC/cm <sup>2</sup>							
EDAD	VP	DIA MAP					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	<10	<10	47	47	230	740
	VP 5d MAP	10	10	33	320	650	12500
	VP 10d MAP	<10	37	63	240	34300	58100
24 - 36 meses	VP 0d MAP	<10	<10	30	77	410	1610
	VP 5d MAP	10	10	57	160	630	9600
	VP 10d MAP	<10	53	140	310	51700	60000
Pseudomona aeruginosa							
EDAD	VP	DIA MAP					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
	VP 5d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
	VP 10d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
24 - 36 meses	VP 0d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
	VP 5d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
	VP 10d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
Salmonella							
EDAD	VP	DIA MAP					
		1	4	9	13	18	21
48 meses	VP 0d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
	VP 5d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
	VP 10d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
24 - 36 meses	VP 0d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
	VP 5d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia
	VP 10d MAP	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	Ausencia