



MCA-2017/07

S.E.P. TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO
de Tuxtepec

**"EFECTO DE UNA PELÍCULA ACTIVA BICAPA DE
QUITOSANO Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO EN
LA CONSERVACIÓN DE CARNE DE RES"**

TESIS

Para Obtener el título de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

PRESENTA:

I.A. NARDA OLIVIA CABRERA RODRÍGUEZ

DIRECTORA:

M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA

CO-DIRECTORA:

DRA. ARACELI PÉREZ SILVA

CO-DIRECTORA EXTERNA:

DRA. PATRICIA MENDOZA GARCÍA

TUXTEPEC, OAXACA, MARZO 2017

COMITÉ TUTORIAL

M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA

DRA. ARACELI PÉREZ SILVA

DRA. PATRICIA MENDOZA GARCÍA

DRA. CECILIA EUGENIA MARTÍNEZ SÁNCHEZ

DR. JUAN GABRIEL TORRUCO UCO



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC

**EFFECTO DE UNA PELÍCULA ACTIVA BICAPA
DE QUITOSANO Y ACEITE ESENCIAL DE
ORÉGANO EN LA CONSERVACIÓN DE
CARNE DE RES”.**

TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

PRESENTA:

I.A. NARDA OLIVIA CABRERA RODRÍGUEZ

DIRECTOR:

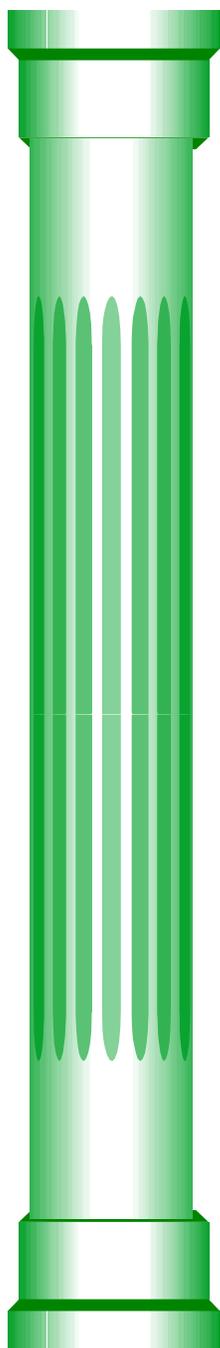
M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA

CO-DIRECTOR INTERNO:

DRA. ARACELI PEREZ SILVA

CO-DIRECTOR EXTERNO:

DRA. PATRICIA MENDOZA GARCÍA



SEP

SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Tuxtepec

“Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos”

SUBDIRECCIÓN ACADÉMICA
División de Estudios Profesionales

Procedimiento para la Titulación
Autorización de Presentación del Trabajo Profesional
Referencia a la Norma ISO 9001:2008 7.5.1

SUBDIRECCION ACADÉMICA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
EXPEDIENTE: DEP-ñ/17
Tuxtepec, Oaxaca. **23/MARZO/2017**
OFICIO: No. 1485

I.A. NARDA OLIVIA CABRERA RODRÍGUEZ
EGRESADA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS
CON NÚMERO DE CONTROL M15350003
PRESENTE.

POR MEDIO DE LA PRESENTE ME PERMITO COMUNICARLE QUE LA COMISIÓN REVISORA INTEGRADA POR LOS C.C. **M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA, DRA. ARACELI PÉREZ SILVA, DRA. CECILIA EUGENIA MARTÍNEZ SÁNCHEZ Y DR. JUAN GABRIEL TORRUCO UCO** REVISÓ Y APROBÓ EN SU TOTALIDAD EL TRABAJO PROFESIONAL DENOMINADO “**EFFECTO DE UNA PELÍCULA ACTIVA BICAPA DE QUITOSANO Y ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO EN LA CONSERVACIÓN DE CARNE DE RES**” PRESENTADO POR USTED COMO PRODUCTO DE **TESIS** DEL LINEAMIENTO DE TITULACIÓN CORRESPONDIENTE, PARA OBTENER EL GRADO DE **MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS**.

POR LO ANTERIOR Y DE ACUERDO A LOS LINEAMIENTOS INSTITUCIONALES, SE LE DA TRÁMITE LEGAL PARA QUE PROCEDA A LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO PROFESIONAL.

ATENTAMENTE
“CIENCIA Y TÉCNICA PRESENTES AL FUTURO”


M.E. JULIAN KURI MAR
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES.

C.c.p.-Coord. de titulación
JKM/has



Av. Dr. Víctor Bravo C.P. 68350 Col. 5 de Mayo Tuxtepec, Oaxaca
Teléfono: (287) 87 5 10 44 Ext. 103, Fax: (287) 87 5 18 80
e-mail: info@ittux.edu.mx



ISO 9001:2008
NASC
INICIO: 2009.09.22
RECERTIFICACIÓN: 2013.06.25
TERMINO: 2016.06.25

REGISTRO SGC
Código: ITTUX-AC-PO-008-09
Revisión: 1
Fecha de Autorización: 19/Junio/2014

Proceso Educativo: Que comprende desde la inscripción hasta la entrega de título y cédula profesional de licenciatura.

**“CONSERVACIÓN DE CARNE DE RES UTILIZANDO UNA
PELÍCULA ACTIVA BICAPA CON QUITOSANO Y ACEITE
ESENCIAL”.**

POR:

I.A. NARDA OLIVIA CABRERA RODRÍGUEZ

**TESIS PROPUESTA AL
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC**

**COMO REQUERIMIENTO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS**

MARZO, 2017

DEDICATORIA

A mi madre

Quien es la persona más importante en mi vida, que no solo es mi mamá es mi amiga y la mayor bendición que Dios me ha regalado, es quien se ha esforzado y sigue esforzándose día a día por darme lo mejor, quien ha sido mi fortaleza y que siempre está conmigo en los momentos más difíciles. A quien, gracias a su ejemplo, a su disciplina, pero sobre todo a su amor estoy en donde estoy y soy la persona que soy. ¡Gracias mamá!

A mis segundos padres (Sara y José)

Gracias por su apoyo desde siempre, pero sobre todo durante estos últimos 2 años. Porque siempre estuvieron al pendiente de mí y madrugaban todos los lunes para ir a dejarme al camión, solo para que estuviera un día más con ustedes.

A mis pequeños hermanos (Ely y Josué)

Gracias por su apoyo durante este tiempo que a pesar de la distancia nunca nos separamos y siempre hacían mis fines de semana de lo mejor, los amo pequeños.

A toda mi familia

Porque siempre creyeron en mí, me brindaron su apoyo en cada momento y estuvieron pendientes de mí para que no me sintiera sola.

¡GRACIAS!

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme llegar hasta este momento de mi vida, donde uno de los anhelos más grandes de mi corazón se cumple, por darme la inteligencia que necesitaba para sacar adelante este proyecto, por poner en mi camino a personas maravillosas que estuvieron conmigo, por demostrarme cada día que siempre está a mi lado y que sus planes son perfectos Gracias Dios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

Al Instituto Tecnológico de Tuxtepec, por permitirme realizar en sus aulas y laboratorios mis estudios de Posgrado. Así mismo por haber contribuido substancialmente en mí desarrollo científico y personal.

A mi asesora

Maestra mi más grande admiración y agradecimiento, porque no solo fue mi asesora también fue una amiga, gracias por todo su apoyo, por todo el tiempo y dedicación que invirtió para revisar los resultados, las presentaciones y la redacción de la tesis, por siempre estar pendiente de mí y ayudarme al desarrollo de este proyecto. Mil gracias.

A mi comité revisor, Dra. Araceli Pérez Silva, Dra. Cecilia Eugenia Martínez Sánchez, Dr. Juan Gabriel Torruco Uco, por su valiosa contribución en la elaboración de esta tesis. A la Dra. Patricia Mendoza García por su asesoramiento en el desarrollo de este proyecto. A la M.C. Maribel Montero por las facilidades otorgadas para el desarrollo de esta tesis. Y a todos los profesores de la Maestría en Ciencia de Alimentos. Gracias por contribuir en mi formación académica y profesional.

A todos los integrantes del laboratorio DNP y a todos mis amigos

Gracias por su amistad, apoyo, comprensión y ayuda cuando tenía un mundo de trabajo o cuando salía muy tarde. Gracias por todo, pero sobre todo gracias por hacer mi estancia en esta ciudad y en esta escuela más placentera. ¡Dios los bendiga!

A todas las personas que de alguna manera estuvieron conmigo, creyeron en mí y me apoyaron. **¡MUCHAS GRACIAS!**

RESUMEN

Cabrera Rodríguez, Narda Olivia. Maestría en Ciencias en Alimentos. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. “Conservación de carne de res utilizando una película activa bicapa con quitosano y aceite esencial”. Director(a): M.C. Ernestina Paz Gamboa, Co-Directores (as): Dra. Araceli Pérez Silva y Dra. Patricia Mendoza García.

La carne es un alimento perecedero debido a su composición química, por este motivo se han desarrollado métodos de conservación para inhibir el crecimiento microbiano en los alimentos con la finalidad de extender su vida útil; como las películas activas que liberan gradualmente agentes antimicrobianos incorporados en la matriz biopolimérica. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de una película activa bicapa de quitosano (Qo) y aceite esencial de orégano (AEO) en la conservación de carne de res. Se utilizaron medallones de Top Sirloin crudo caracterizándose fisicoquímicamente (análisis químico proximal (AQP), pH, capacidad de retención de agua (CRA), color, dureza) y microbiológicamente (*S. aureus*, *Salmonella*, *L. monocytogenes*). Se elaboró la película de quitosano con aceite esencial de orégano al 3% y se evaluó su efecto antimicrobiano contra *Listeria innocua*; utilizando para la carne cruda un diseño factorial 2^3 teniendo como factores: inóculo (I), película (P) y vacío (V), y dos controles C-1(con-I) y C-2 (sin-IPV). En carne asada se utilizó un diseño factorial 2^2 con factores: P y V. Ambos tratamientos fueron almacenados a 5 °C durante 14 días. El tratamiento que obtuvo máxima inhibición microbiana fue asado y evaluado utilizando una prueba de aceptación al consumidor. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA). Se encontró que la carne cruda tenía un 74.79% de humedad, proteína 22.65%, grasa 1.32% y cenizas 0.95%, pH 5.23, CRA 12.89 mL/100g carne, dureza de 386.512 N. La cuenta inicial de *L. monocytogenes* fue de 5.99 log UFC/g de; mientras *Salmonella* y *S. aureus* se encontraron ausentes. Durante el almacenamiento no se encontró diferencia entre los tratamientos C-IPV y C-IP; sin embargo, fueron significativamente diferentes a C-1 encontrándose disminución de

humedad (5-6%), 2 mL/100 g de CRA, se mantuvo el color de la carne y el pH (5.3) entre el día 7 y 14; se redujo 3.28 log UFC/g de *Listeria* en el día 7 y 3.39 log UFC/g en el día 14. En carne asada C-PV inhibió 5.41 log UFC/g de *Listeria innocua* en el día 7; esto se debe a los componentes de la película. Se eligió C-PV (reducción de 3.05 log UFC/g) para la prueba al consumidor, obteniéndose 70% de aceptación. Se concluye que aplicando la película de Qo con AEO (3%) en sirloin de res crudo y asado disminuye la carga microbiana, se mantiene el pH y retiene el color de la carne durante 14 días sin tener efecto significativo el vacío aplicado al envasado. Sensorialmente la carne fue aceptada por los consumidores.

ABSTRACT

Cabrera Rodriguez, Narda Olivia. Maestría en Ciencias en Alimentos. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. "Conservación de carne de res utilizando una película activa bicapa con quitosano y aceite esencial". Director(a): M.C. Ernestina Paz Gamboa, Co-Directores (as): Dra. Araceli Pérez Silva y Dra. Patricia Mendoza García.

The meat is a perishable food because of its chemical composition, for this reason conservation methods have been developed to inhibit microbial growth in food in order to extend its shelf life; as active films that gradually release antimicrobial agents incorporated into the biopolymer matrix. The objective of this research was to evaluate the effect of an active chitosan bilayer film (Qo) and essential oil of oregano (AEO) in the conservation of beef. Top Sirloin medallions were used, characterized physicochemically (Proximal chemical analysis (AQP), pH, water holding capacity (WHC), color, hardness) and microbiologically (*S. aureus*, *Salmonella*, *L. monocytogenes*). The chitosan film was made with 3% Oregano essential oil and evaluated its antimicrobial effect against *Listeria innocua*; using for raw meat a factorial design 2^3 taking as factors: inoculum (I), film (F), vacuum (V), and two controls C-1 (with-I) y C-2 (without-IFV). In roast meat we used a factorial design 2^2 with two factors, F y V. Both treatments were stored at 5 ° C for 14 days. The treatment that obtained maximum microbial inhibition was roasted and evaluated using a consumer acceptance test. Data were analyzed by analysis of variance (ANOVA). It was found that raw meat had a 74.79% of moisture, 22.65% protein, 1.32% fat and 0.95% ash, pH 5.23, WHC 12.89 mL/100 g meat, hardness of 386.512 N. The initial count of *L. monocytogenes* was 5.99 log CFU / g; while *Salmonella* and *S. aureus* were absent. During storage, no difference was found between C-IPV and C-IP treatments; however, were significantly different to C-1, finding decreased moisture (5-6%) and 2 mL/100 g of WHC, the flesh color and pH (5.3) were maintained between 7 and 14 days; decreased 3.28 log CFU/g of *Listeria*

on day 7 and 3.39 log CFU/g on day 14. In roast C-PV inhibited 5.41 log CFU/g *Listeria innocua* on day 7; this is due to the components of the film. It was chosen C-PV (Reduction of 3.05 log CFU/g) for the test directed to the consumer, obtaining 70% of acceptance. It is concluded that applying the Qo film with AEO (3%) in sirloin of raw and roasted beef it diminishes the microbial load, maintains the pH and retains the color of the meat during 14 days without having significant effect the vacuum applied to the packaging. Sensory meat was accepted by consumers.

ÍNDICE

RESUMEN	i
ABSTRACT	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Contaminación de alimentos	3
2.2 Carne de res	4
2.2.1 Calidad en carne	4
2.2.2 Factores que afectan la calidad de la carne	6
2.2.3 Microorganismos contaminantes de la carne	7
2.3 Envases de los alimentos	9
2.3.1 Envases activos	11
2.3.2 Películas y recubrimientos en carne	18
3. ANTECEDENTES	20
4. JUSTIFICACIÓN	22
5. OBJETIVOS	23
5.1 Objetivo General	23
5.2 Objetivos Específicos	23
6. MATERIALES Y MÉTODOS	24
6.1 Materiales	24
6.2 Elaboración de las películas	24
6.3 Preparación de las muestras de carne cruda	25
6.4 Preparación de las muestras de carne asada	25
6.5 Inoculación de la carne con <i>Listeria innocua</i>	25
6.6 Análisis de las muestras de carne cruda.	26
6.6.1 Diseño Experimental.	26
6.6.2 Análisis microbiológico	27
6.6.3 Determinación de pH	27
6.6.4 Capacidad de retención de agua (CRA)	28
6.6.5 Análisis químico proximal (AQP)	28
6.6.6 Determinación de color	28
6.6.7 Determinación de Textura	29

6.7	Análisis de las muestras de carne asada	29
6.7.1	Diseño experimental.....	29
6.7.2	Análisis microbiológico.....	30
6.7.3	Análisis químico proximal (AQP).....	30
6.7.4	Determinación de textura.....	30
6.7.5	Prueba de aceptación dirigida al consumidor	30
6.8	Análisis estadístico	31
7.	RESULTADOS	32
7.1	Análisis de la carne fresca.....	32
7.1.1	Análisis Químico Proximal.....	32
7.1.2	Caracterización fisicoquímica de la carne fresca	32
7.1.3	Análisis Microbiológico.....	35
7.2	Evaluación del efecto antimicrobiano de las películas de Qo y AEO en carne de res cruda	36
7.3	Caracterización fisicoquímica de los tratamientos durante el almacenamiento.	39
7.3.1	Análisis Químico Proximal.....	39
7.3.2	Capacidad de Retención de Agua	41
7.3.3	Determinación del pH de la carne	42
7.3.4	Diferencia total de color (ΔE).....	43
7.3.5	Diferencia total de a^* (Δa^*).....	44
7.4	Determinación de textura.....	45
7.5	Efecto antimicrobiano de la película de quitosano y aceite esencial de orégano contra <i>Listeria innocua</i> en carne asada.....	46
7.5.1	Análisis Químico Proximal de carne asada	47
7.5.2	Determinación de textura en carne asada.....	49
7.6	Prueba de aceptación dirigida al consumidor	50
8.	CONCLUSIONES	52
9.	RECOMENDACIONES	53
10.	BIBLIOGRAFÍA	54
11.	ANEXO 1	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño de experimentos para carne cruda.....	26
Tabla 2. Diseño de experimentos para carne asada	30
Tabla 3. Análisis Químico Proximal de la carne fresca cruda.....	32
Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas de la carne fresca	35
Tabla 5. Análisis Microbiológico	35
Tabla 6. Efecto antimicrobiano de películas de quitosano con aceite esencial de orégano en medallones de Top Sirloin de res contra <i>Listeria innocua</i> (Log UFC/g) almacenada a ≈ 5 °C.....	37
Tabla 7. Contenido de humedad (%) de los tratamientos almacenados durante 14 días	39
Tabla 8. Contenido de proteína (% b.s.) de los tratamientos almacenados durante 14 días	40
Tabla 9. Contenido de cenizas (% b.s.) en los tratamientos almacenados durante 14 días.	40
Tabla 10. Efecto de las películas de quitosano con aceite esencial de orégano sobre la CRA (mL retenidos/100 g de carne) de Top Sirloin de res.....	41
Tabla 11. Efecto de la película de quitosano con aceite esencial de orégano sobre el pH de Top Sirloin de res.....	42
Tabla 12. Dureza (N) de la carne fresca durante los 14 días de almacenamiento.....	46
Tabla 13. Efecto antimicrobiano de películas de quitosano con aceite esencial de orégano en Sirloin de res asado contra <i>Listeria innocua</i> en función al tiempo, almacenado a ≈ 5 °C.....	47
Tabla 14. Contenido de humedad (%) de los tratamientos de carne asada almacenados durante 14 días	48
Tabla 15. Contenido de grasa (%) de los tratamientos de carne asada almacenados durante 14 días	48
Tabla 16. Contenido de ceniza (%) de los tratamientos almacenados durante 14 días.	49

Tabla 17. Contenido de proteína (%) de los tratamientos de carne asada almacenados durante 14 días	49
Tabla 18. Dureza (N) de la carne asada durante los 14 días de almacenamiento.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura monocapa (Quintavalla & Vicini, 2002)	12
Figura 2. Estructura bicapa (Quintavalla & Vicini, 2002).	13
Figura 3. Diferencia total de color (ΔE).....	43
Figura 4. Diferencia total de a^* (Δa^*).....	45
Figura 5. Aceptación de Top Sirloin de res envasado con la película de quitosano y aceite esencial de orégano.....	51

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La seguridad alimentaria es un problema crítico de salud pública debido a las enfermedades transmitidas por los alimentos contaminados con microorganismos patógenos; esta contaminación provoca pérdidas económicas en la industria de los alimentos; uno de los alimentos que presenta esta problemática es la leche. Debido a esta problemática en los últimos años se han desarrollado nuevas tecnologías de conservación para extender la vida de anaquel de los alimentos y poder detener o inhibir el crecimiento microbiano que es el principal causante del deterioro de estos; una de estas tecnologías desarrolladas son las películas activas que se encargan de mejorar la calidad de los productos alimenticios, protegiéndolos del deterioro físico, químico, y biológico; también pueden proteger a los productos alimenticios de la migración de humedad, el crecimiento microbiano en la superficie, de los cambios químicos inducidos por la luz, y de la oxidación de nutrientes; además funcionan como portadores de sustancias activas, tales como antioxidantes, antimicrobianos, y colorantes.

Los materiales que se utilizan en este tipo de recubrimientos pueden ser del tipo biopolimérico como son los compuestos derivados de almidón, de celulosa, quitosano, pectinas, zeína, colágeno, alginatos, proteína de soya, caseína, y plásticos como polietileno de baja densidad (LDPE), polietileno tereftalato (PET), poliestireno (PS) entre otros. Y dentro de ellos pueden estar incorporados compuestos antimicrobianos como aceites esenciales, ácidos orgánicos, enzimas, fungicidas, y bacteriocinas.

Las películas activas a base de quitosano han demostrado ser una gran promesa para su aplicación como conservantes de alimentos de origen animal; ya que son bioadherentes, altamente biocompatibles, transparentes e incoloras lo que facilita su aplicación en la superficie de los alimentos; además han demostrado tener un efecto antimicrobiano contra microorganismos que comúnmente contaminan alimentos de origen animal como bacterias del tipo *Escherichia coli*, *Listeria*

monocytogenes, *Pseudomonas spp*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*. El único inconveniente que presentan al ser utilizadas como películas es la fragilidad, por tal razón se puede utilizar una base polimérica comercial y sobre ella la solución de quitosano con el fin de dar mayor firmeza a la película; estas son conocidas como películas bicapa.

Los aceites esenciales son uno de los aditivos que se utilizan como agentes antimicrobianos contra los patógenos transmitidos por los alimentos ya que contienen un alto porcentaje de compuestos fenólicos, tales como carvacrol, eugenol y timol, la principal ventaja es que no están incorporados directamente al alimento, es decir son liberados de manera controlada a fin de mantener en el alimento la concentración mínima requerida.

Debido a esto en el presente trabajo se elaboró una película activa bicapa a base de quitosano y aceite esencial de orégano, y se probó la eficiencia en medallones de sirloin de res crudos y asados, los cuales fueron inoculados con *Listeria innocua* con el objetivo de determinar el efecto antimicrobiano de las películas en la carne de res; en los tratamientos de carne cruda también se determinó el efecto de las películas sobre el pH, capacidad de retención de agua, color, textura, análisis químico proximal, y se realizó una prueba de aceptación dirigida al consumidor. En la carne asada se realizó el análisis químico proximal, y textura.

MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Contaminación de alimentos

El crecimiento de microorganismos es una de las principales causas de la degradación de los alimentos, debido a que pueden acelerar la oxidación de lípidos y otros procesos de oxidación, además de producir cambios en las características organolépticas de los alimentos. Los microorganismos patógenos son los responsables de las enfermedades transmitidas por los alimentos (Atarés & Chiralt, 2016). Actualmente una prioridad a nivel mundial es la seguridad alimentaria, debido a los riesgos microbiológicos por el consumo de alimentos contaminados (Realini & Marcos, 2014). La contaminación de los alimentos sucede durante el sacrificio, post-procesamiento, distribución y envío (Vodnar et al., 2015). A nivel mundial existen pérdidas de alimentos a lo largo de la cadena de suministro (producción, minoristas, consumidores) que varía en cada país; sin embargo, las estimaciones del deterioro de la carne cruda por contaminación es aproximadamente del 40% (Realini & Marcos, 2014).

La contaminación por microorganismos ha provocado que se retiren los alimentos del mercado, lo que resulta en grandes pérdidas económicas para la industria alimentaria en el mundo (Bento, Stamford, Stamford, de Andrade, & de Souza, 2011). Además de que causa importantes problemas de salud pública en todo el mundo (Rodríguez-Núñez et al., 2012).

La carne y los productos cárnicos, son la causa principal de enfermedades transmitidas por los alimentos. El crecimiento microbiano es generalmente el responsable del deterioro de estos, además del deterioro bioquímico y enzimático (Emiroğlu et al., 2010).

2.2 Carne de res

Es “la estructura estriada esquelética, acompañada o no de tejido conectivo, hueso y grasa, además de fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos; proveniente de animales utilizados para abasto, que no han sido sometida a ningún proceso que modifique de modo irreversible sus características sensoriales y fisicoquímicas, salvo la refrigeración y/o congelación y envasado (vacío, atmósfera modificada)” (Braña-Varela et al., 2012).

La carne es un alimento importante en la alimentación humana debido a que cuando se digiere su proteína se descompone liberando aminoácidos, éstos son asimilados y utilizados para la reparación y el crecimiento de las células (Kerry et al., 2002); por este motivo es de suma importancia la calidad de la carne de res que se va a consumir.

2.2.1 Calidad en carne

La satisfacción del consumidor al comer carne es una respuesta compleja basada en evaluaciones objetivas y emocionales de la calidad del producto. Aparte del precio del producto, otros aspectos de calidad como la seguridad y la salubridad son criterios muy importantes (Hocquette et al., 2012).

Las perspectivas de los consumidores sobre la calidad de la carne son complejas (Henchion et al., 2017), debido a que existen atributos de calidad y señales de calidad; los atributos de calidad son lo que el consumidor quiere y las señales de calidad es lo que observa el consumidor; estas pueden ser intrínsecas o extrínsecas

Las señales intrínsecas son las características inherentes del producto que no pueden ser alteradas sin alterar la naturaleza del producto, determinan las expectativas de calidad (Kerry et al., 2002), tales como el color, apariencia, terneza,

jugosidad, sabor, cantidad de grasa sin embargo, conducen a expectativas de calidad inadecuadas (Hocquette et al., 2012).

Las señales extrínsecas están relacionadas con el producto y pueden ser modificadas externamente. Por ejemplo, la fecha, el origen del producto, información sobre la producción o elaboración del producto (Kerry et al., 2002), cuidado del medio ambiente, bienestar y tipo de alimentación de los animales, que se encuentren libre de hormonas y antibióticos (Henchion et al., 2017).

La calidad de la carne cruda puede ser definida como la aptitud de la carne para su uso en un producto especificado; es decir, si la carne es adecuada para el uso para el que fue destinado, entonces la calidad de la carne se define como buena. Si la carne es menos adecuada para el producto, entonces la calidad de la carne se define como pobre; de este modo los atributos de la carne que determinan la calidad dependerán del uso al que se destina la carne (Kerry et al., 2002).

2.2.1.1 Calidad tecnológica

En carne y productos cárnicos procesados el rendimiento es uno de los principales parámetros de calidad, ya que determina la cantidad de producto disponible para la venta afectando directamente al precio del producto; los indicadores de la carne cruda que permiten predecir el rendimiento es el pH y la capacidad de retención de agua; los cuales dependen del metabolismo y sacrificio del animal. La calidad sensorial de la carne procesada puede ser influenciado por el color, la distribución y la calidad de la grasa (Kerry et al., 2002).

2.2.1.2 Calidad sensorial

El atributo de la experiencia, representa principalmente el sabor y la textura de la carne, cuando se consume el producto, determina el nivel de aceptación del consumidor, donde la expectativa de calidad creada se confirma o se rechaza,

determinando el nivel de satisfacción del consumidor; y este nivel de aceptación puede influir en las decisiones de compra de carne en un futuro (Henchion et al., 2017).

2.2.1.3 Calidad microbiológica

La carne está relacionada con diferentes microorganismos los cuales incluye parásitos protozoarios, helmintos, artrópodos, virus, priones y bacterias principalmente; teniendo un aumento en los casos de las enfermedades transmitidas por los alimentos; generado una preocupación por la seguridad de los consumidores. La detección del origen de estos patógenos es esencial para el control de los peligros y el manejo del riesgo que supone su presencia.

Los métodos analíticos utilizados para detectar la presencia de estos microorganismos han avanzado significativamente en los últimos años; permitiendo la rápida detección y caracterización de diferentes patógenos a través del procesamiento de la carne. (Kerry et al., 2002). Actualmente las normas de inocuidad alimentaria en la Unión Europea se orientan hacia el control de calidad en el proceso, producto final y durante la vida útil del producto (Henchion et al., 2017).

2.2.2 Factores que afectan la calidad de la carne

2.2.2.1 Contenido de grasa

Se ha demostrado que el contenido de grasa intramuscular afecta el sabor, la jugosidad, la ternura y las características visuales de la carne; a medida que aumenta el contenido de grasa, aumenta la palatabilidad; esto se debe a que cuando la carne se cocina los triglicéridos se funden y bañan las fibras musculares. Y cuando se mastica la carne la grasa se libera, la salivación aumenta y la carne se percibe como jugosa. Además, facilita el deslizamiento de las fibras musculares permitiendo una sensación de ternura.

Sin embargo, cuando el contenido de grasa es muy visible los consumidores que son conscientes de la salud y mantienen una dieta saludable están dispuestos a sacrificar la palatabilidad por un menor contenido de grasa (Kerry et al., 2002).

2.2.2.2 Color de la carne

Es el principal factor visual que afecta la calidad de la carne (Abril et al., 2001). El color de la carne es el resultado del contenido de mioglobina, que es el principal compuesto que contiene pigmento, el cual pueden absorber o reflejar la luz. El nivel de mioglobina dentro de un músculo está influenciado por la especie, la función muscular dentro del animal y la edad del animal (Kerry et al., 2002). A medida que aumenta el contenido de mioglobina, la intensidad de color de la carne aumenta de blanco o rosa a rojo muy oscuro (Rubio-Lozano et al., 2013).

2.2.3 Microorganismos contaminantes de la carne

La carne cruda puede ser fácilmente contaminada por microorganismos y favorecer el crecimiento de patógenos, ya que constituye un medio idóneo para el desarrollo de microorganismos debido a que les proporciona condiciones como la actividad de agua (a_w) y el pH óptimos, así como los nutrientes necesarios para su crecimiento (Pérez-Chabela et al., 2008); causando enfermedades transmitidas por los alimentos (Solomakos et al., 2008). Algunos de los microorganismos responsables de estas enfermedades son:

2.2.3.1 *Salmonella*

Es uno de los microorganismos patógenos transmitido por los alimentos más común, causante de enfermedades infecciosas a nivel mundial; el número de casos de Salmonelosis ocasionado por productos cárnicos ha aumentado. Afecta principalmente a personas con sistemas inmunológicos debilitados, las cuales deben de ser tratadas con los antibióticos adecuados (Bajpai et al., 2012). Los

síntomas de la salmonelosis son náuseas, vómitos, diarrea, calambres abdominales y fiebre que duran de 3 a 12 días (Kerry et al., 2002). Hay más de 2500 serotipos de *Salmonella* y todos son patógenos potenciales, los más comunes son *Salmonella enteritidis* y *S. typhimurium*. Es considerada como un microorganismo de cero tolerancias en los alimentos (Rodríguez-Núñez et al., 2012).

2.2.3.2 *E. coli* O157: H7.

Es una bacteria fecal que se encuentra comúnmente en ambientes externos como en el suelo y agua; hay más de 170 serotipos, (Kerry et al., 2002) de los cuales algunos son patógenos que puede provocar colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico y en casos graves la muerte; debido al consumo de alimentos contaminados como por ejemplo la carne poco cocinada (Shekarforoush et al., 2015)

2.2.3.3 *Listeria monocytogenes*

Es un patógeno de especial importancia en la carne y productos cárnicos listos para consumir ya que *Listeria monocytogenes* es capaz de sobrevivir a temperaturas de refrigeración (2-4 °C) y también en alimentos congelados, tolera altas concentraciones de sal (Ye et al., 2008). Dependiendo del nivel de contaminación del alimento con las cepas virulentas de *Listeria monocytogenes*, puede causar listeriosis que es una enfermedad transmitida por los alimentos que tiene una tasa de mortalidad del 13% (Khanjari et al., 2013; Realini & Marcos, 2014), siendo la más alta de los patógenos transmitidos por los alimentos (Martín et al., 2014). La infección por *Listeria* se considera como la más letal (Paparella et al., 2016); en adultos mayores y personas con sistemas inmunes deficientes puede causar meningitis (Beverly et al., 2008).

Listeria monocytogenes está ampliamente distribuida en el medio ambiente, debido a que es capaz de sobrevivir los tratamientos desinfectantes que se realizan en las

plantas procesadoras de alimentos (Paparella et al., 2016), siendo de gran preocupación para la seguridad alimentaria debido a que los alimentos se pueden contaminar en la fase post procesamiento (Ye et al., 2008). La mayoría de los brotes de listeriosis están relacionados con el consumo de productos cárnicos (Martín et al., 2014). La contaminación de alimentos por *Listeria* ha provocado que se retiren algunos alimentos del mercado lo que ha causado grandes pérdidas económicas en la industria alimentaria a nivel mundial (Bento et al., 2011).

Se conocen 13 serotipo de *Listeria monocytogenes*, los serotipos 4b, 1/2a, 1/2b son los responsables del 95% de los casos de listeriosis (Martín et al., 2014); sin embargo no son las únicas subespecies de importancia, ya que *Listeria innocua* también es importante debido a que se encuentra muy a menudo en el mismo entorno de procesamiento de alimentos; y ha demostrado su presencia en carne y productos cárnicos (Gómez et al., 2014).

Listeria innocua es una cepa no patógena de *Listeria monocytogenes*, que se utiliza como sustituto de *L. monocytogenes* (Noriega et al., 2011). *L. innocua* ya se ha utilizado en algunos estudios tales como los de Gómez-Estaca et al. (2010); Gómez et al. (2014); Noriega et al. (2011); Royo et al. (2010) como microorganismo para determinar la calidad microbiológica de algunos alimentos.

La vida útil de la carne se reduce por la contaminación con productos químicos y microorganismos durante el sacrificio, procesamiento y distribución. Utilizar envases es el resultado de cubrir los alimentos con algún material para retrasar su deterioro (Quintero-Salazar & Ponce-Alquicira, 2007).

2.3 Envases de los alimentos

Las principales funciones de los envases consisten en retrasar el deterioro, extender la vida útil, mantener la calidad y la seguridad de los alimentos. El envase protege a los alimentos de factores ambientales como el calor, luz, humedad, oxígeno,

presión, enzimas, olores, microorganismos, insectos, suciedad, partículas de polvo (Restuccia et al., 2010). Los envases utilizados en carnes y productos cárnicos se pueden clasificar de acuerdo al tipo de ambiente que contengan, ya sea con o sin oxígeno como:

- **Envasado tradicional:** Es el más común y utilizado en los supermercados; consiste en colocar la carne sobre una charola de unicel y envolverlo con plástico transparente o se introduce dentro de bolsas de plástico o polipapel. Es el tipo de envase más económico y que favorece la descomposición de la carne, debido a que permite el paso de oxígeno.
- **Envasado al vacío:** Se realiza en bolsas de plástico que proporciona una barrera de protección contra el exterior. La carne se introduce en la bolsa y está se coloca dentro de una selladora al vacío que es la encargada de remover el aire existente en el interior (Braña-Varela et al., 2012); además este tipo de envasado contribuye a la reducción de los microorganismos aerobios presentes en el alimento (Vodnar et al., 2015)
- **Envasado en atmósfera modificada:** Son bolsas o bandejas de plástico que funcionarán como barrera impermeable a gases. Se utiliza una máquina que extrae el aire en el interior del envase y que inyecta cantidades específicas de gases; los cuales pueden ser oxígeno, dióxido de carbono, nitrógeno y monóxido de carbono, y posteriormente se sella (Braña-Varela et al., 2012).

Actualmente debido a los problemas de salud y ambientales existe una demanda de los consumidores por los alimentos mínimamente procesados, más naturales, frescos y con la menor cantidad de productos químicos añadidos (Realini & Marcos, 2014); además de que el material de envasado de los alimentos sea desechables, biodegradables y reciclables (Emiroğlu et al., 2010); siendo un reto para la inocuidad y la calidad de los alimentos, teniendo que ofrecer soluciones innovadoras que satisfagan las necesidades de los consumidores, así como que cumplan con los

requisitos legales y reglamentarios (Realini & Marcos, 2014); en respuesta a esta tendencia se desarrolló un nuevo concepto de empaque conocido como envase activo (Quintero-Salazar & Ponce-Alquicira, 2007).

2.3.1 Envases activos

El envasado activo de los alimentos puede proporcionar varias funciones que no existen en los sistemas convencionales de envasado; es un sistema donde el producto y el entorno interactúan para extender la vida útil de los alimentos, mejorar la seguridad microbiológica o las propiedades sensoriales; manteniendo la calidad del alimento envasado (Martucci et al., 2015; Realini & Marcos, 2014; Suppakul et al., 2003).

El envasado activo de alimentos puede proporcionar varias funciones que no existen en los sistemas de envasado convencionales, como la eliminación de oxígeno, humedad o etileno, emisión de etanol y aromas, y actividad antimicrobiana (Quintavalla & Vicini, 2002). Esta tecnología emergente trata de garantizar la apariencia natural y ser respetuosas con el medio ambiente (Aymerich et al., 2008).

Los sistemas activos pueden clasificarse en absorbedores y emisores. Los absorbedores se encargan de eliminar sustancias no deseadas como oxígeno, exceso de agua, etileno, dióxido de carbono, olores y sabores. Los emisores aportan activamente al alimento envasado sustancias como dióxido de carbono, agua, antioxidantes o conservantes y antimicrobianos (González-Requena, 2012).

Por otra parte, los materiales activos pueden estar compuestas por una o más capas elaboradas con diferentes tipos de materiales, tales como plásticos, papel y cartón, o recubrimientos (Restuccia et al., 2010). En la Figura 1 y 2 se muestra los 2 tipos de estructura de envasado antimicrobiano; en la Figura 1 se muestra una estructura monocapa; esta se realiza incorporando la sustancia activa dentro del material de envasado, ya sea por medio de un mezclado previo, o por una inmovilización dentro

del material. El mecanismo de migración se lleva a cabo a través del área de contacto entre el material de envasado que contiene la sustancia activa y el alimento, la migración, va a depender de si la sustancia es de grado alimenticio, método de elaboración, la temperatura, y de la composición del alimento (Morales-Pérez, 2005).

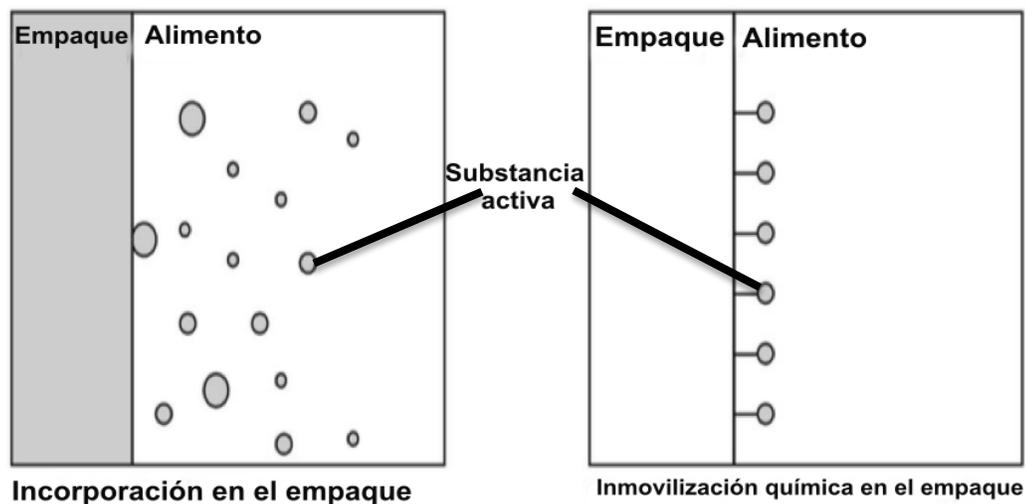


Figura 1. Estructura monocapa (Quintavalla & Vicini, 2002)

En la Figura 2 se muestra una estructura bicapa en el que se realiza un recubrimiento al que se le incorpora la sustancia activa adherido a otro tipo de material de envasado que puede ser sintético o biopolimérico. Cuando el recubrimiento se aplica antes de envasar el alimento, la migración del agente activo va del recubrimiento hacia el alimento o se puede aplicar después de envasar el alimento donde la sustancia activa migra del recubrimiento a través material de envasado hasta llegar al alimento (Morales-Pérez, 2005).

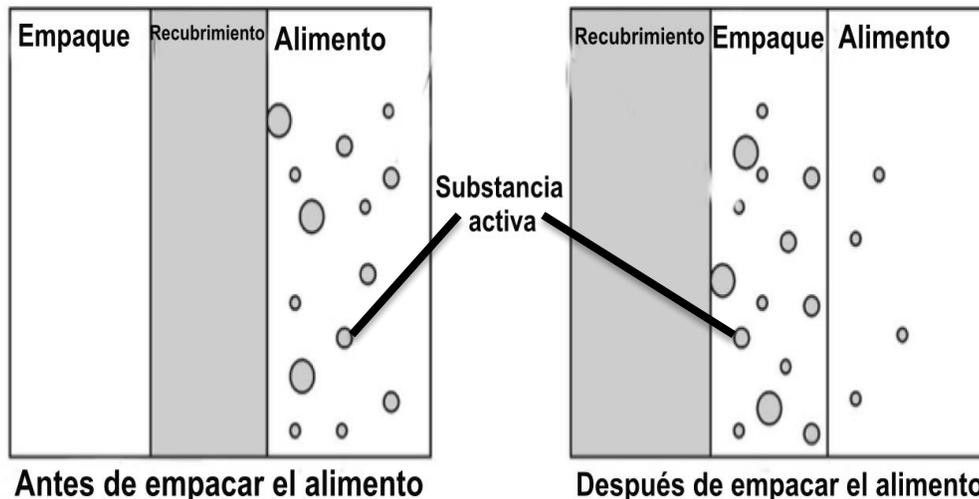


Figura 2. Estructura bicapa (Quintavalla & Vicini, 2002).

2.3.1.1 Envases antimicrobianos

Dentro de los envases activos se encuentran los envases antimicrobianos, es uno de los sistemas de envasado más prometedores. Recientemente ha aumentado el interés por este tipo de envases debido a los riesgos de enfermedades transmitidas por los alimentos (Quintero-Salazar & Ponce-Alquicira, 2007); el cual es eficaz para matar o inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos que contaminan los alimentos. Utilizar envases antimicrobianos tiene mayores ventajas sobre la adición directa del agente antimicrobiano al alimento; debido a que el agente activo puede ser eliminado antes de consumir el alimento (Vodnar et al., 2015).

En los envases antimicrobianos se pueden incorporar los agentes antimicrobianos en la superficie del material de envasado, o añadir el compuesto antimicrobiano de origen natural o sintético en una bolsita en el interior del envase (Emiroğlu et al., 2010). Esto simplifica la manipulación durante el envasado y mejora la seguridad de los consumidores debido a que la sustancia activa no se consume (Restuccia et al., 2010). Como compuestos antimicrobianos se han utilizado ácidos orgánicos, enzimas, lisozima, EDTA, aceites esenciales, quitosano, lactoperoxidasa, lactoferrina y bacteriocinas (Quintero-Salazar & Ponce-Alquicira, 2007).

Actualmente existe un rechazo por parte de los consumidores hacia los conservadores químicos por este motivo surgió el interés por el uso de antimicrobianos naturales como alternativa para el control del deterioro de alimentos y microorganismos patógenos (Vodnar et al., 2015).

Una manera tradicional para el control del crecimiento microbiano es la aplicación de aerosoles o inmersiones antimicrobianos en la superficie del alimento; sin embargo, la eficiencia se ve afectada debido a la migración incontrolada de la sustancia antimicrobiana al alimento, y a la interacción de los compuestos activos con los componentes del alimento que puede causar la inactivación de la sustancia activa (Emiroğlu et al., 2010). Por lo que, se sugiere incorporar estas sustancias antimicrobianas en la elaboración de películas activas.

2.3.1.1.1 Recubrimientos y películas activas

Una película puede definirse como una capa que está proporcionando una protección de barrera contra la contaminación y las pérdidas de humedad, con la finalidad de extender la vida útil del alimento. El uso de películas y recubrimientos ha aumentado en los últimos años como respuesta a la tendencia por reducir los materiales de envasado sintéticos (Quintero-Salazar & Ponce-Alquicira, 2007).

Las películas y recubrimientos se elaboran a partir de biopolímeros naturales como polisacáridos, proteínas, lípidos y composiciones de estas; teniendo como principal ventaja que son renovables, biodegradables, comestibles, biocompatibles, con aspecto estético y presentan propiedades de barrera contra el oxígeno (Martucci et al., 2015). Además de que pueden ser los vehículos para la incorporación de aditivos, tales como antioxidantes y agentes antimicrobianos (Shen & Kamdem, 2015). Cada película que se elabore presentará sus propias propiedades funcionales, las cuales dependerán del material con el que se elaboren (Quintero-Salazar & Ponce-Alquicira, 2007).

Las películas que contienen agentes antimicrobianos actúan previniendo el crecimiento microbiano, debido al contacto directo de la película con la superficie del alimento; esto podría ser más eficiente, debido a la migración lenta de los agentes activos que se encuentran incorporados en la película hacia el alimento; prolongando la actividad antimicrobiana hasta la fase de distribución (Quintavalla & Vicini, 2002; Ye et al., 2008).

En los últimos años ha aumentado el interés por elaborar películas con la incorporación de aceites esenciales; debido a que actúan como antimicrobianos y antioxidantes ayudando a mejorar la seguridad sanitaria y la vida útil de los alimentos (Realini & Marcos, 2014).

Muchos estudios han demostrado la eficacia antimicrobiana de los aceites esenciales cuando se incorporan en películas; siendo eficaces para reducir los microorganismos presentes en los alimentos; sin embargo si se utilizan altas concentraciones se podría afectar el sabor y olor del producto (Emiroğlu et al., 2010).

2.3.1.2 Quitosano

El quitosano es un polisacárido, el segundo más abundante después de la celulosa; compuesto de β -1,4-D-glucosamina unido a residuos de N-acetil-D-glucosamina (Bento et al., 2011). Es producto de la desacetilación de la quitina; la quitina se encuentra en el exoesqueleto de algunos invertebrados, crustáceos y la pared celular de algunos hongos (Juneja et al., 2006; Shahidi et al., 1999). El quitosano es biodegradable, biocompatible, renovable, no tóxico y ha demostrado tener propiedades antimicrobianas contra bacterias, levaduras, mohos y hongos (Kong et al., 2010; Shen & Kamdem, 2015; Van Den Broek et al., 2015), su eficacia frente a estos microorganismos está influenciado por factores tales como el grado de desacetilación, peso molecular, pH de la solución, temperatura y la presencia de componentes alimentarios (Bento et al., 2011).

El quitosano se ha considerado como un conservador potencial de origen natural; en 2001 la USFDA lo categorizó como GRAS (generalmente reconocido como seguro) (Khanjari et al., 2013). Debido a lo anterior en los últimos años ha existido interés en su aplicación en la industria, principalmente en la alimentaria (Kanatt et al., 2008; Shahidi et al., 1999).

El quitosano es insoluble en agua sin embargo es soluble en disolventes ácidos como el ácido clorhídrico, fórmico y acético. En una solución ácida, a los grupos aminos de la molécula de quitosano se les agrega un protón formando NH^{3+} , adquiriendo una carga positiva (Ye et al., 2008).

El quitosano se puede utilizar para la elaboración de películas antimicrobianas debido a sus propiedades de formación de película y antimicrobianas (Beverly et al., 2008); sin embargo, debido a su carácter hidrófilo y la baja resistencia al agua se incorpora a la matriz polimérica compuestos hidrofóbicos como los aceites esenciales; con la finalidad de mejorar la propiedad de barrera contra el agua (Shen & Kamdem, 2015).

2.3.1.3 Aceites esenciales

Durante años se han utilizado los extractos de hierbas y especias como agentes aromatizantes. Los aceites esenciales (AE) son líquidos oleosos aromáticos volátiles obtenidos principalmente por el método de destilación con vapor de flores, capullos, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutas y raíces. Las características de los aceites esenciales están relacionadas con la función de estos compuestos en la planta; algunas tienen propiedades antibacterianas, antivirales, antimicóticos, antitoxigénicos, antiparasitarios, insecticidas (Burt, 2012).

Los aceites esenciales son fuertes antimicrobianos debido a los constituyentes principalmente compuestos fenólicos, ya que cuando estos se han probado por separado han demostrado tener propiedades antimicrobianas (Solomakos et al.,

2008). Debido a la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, estos han sido usados para la conservación de alimentos crudos y procesados, productos farmacéuticos, entre otros (Avila-Sosa et al., 2012). Los aceites esenciales han sido clasificados como GRAS (generalmente reconocido como seguro) por la USFDA (Khanjari et al., 2013).

El uso de estos aceites de manera directa es limitado debido a que se requieren altas concentraciones (Emiroğlu et al., 2010), tienen un aroma intenso, y podrían ocasionar cambios en las propiedades sensoriales del alimento; por esta razón se han incluido en la formulación de películas, además de que se reduce la dosis y se reduce el impacto sobre el alimento (Shen & Kamdem, 2015).

Entre los aceites esenciales con mayor actividad antimicrobiana se encuentra el aceite esencial de tomillo y de orégano lo que podría atribuirse a la presencia de compuestos fenólicos monoterpenoides; en el aceite esencial de orégano los principalmente compuestos son el timol [2-isopropil-5-metilfenol] y el carvacrol [2-metil-5-(1-metiletil) fenol] (Upadhyay et al., 2015); sin embargo el porcentaje de estos compuestos es variado, ya que depende principalmente de la parte de la planta que sea destilada, de la especie y sub especie de orégano que se utilice (Amadio et al., 2011), debido a que existen más de 40 tipos de plantas que se conocen con el nombre de orégano, las cuales comparten olor y sabor característico, sin embargo presentan diferencias en el contenido de carvacrol y timol, y por lo tanto su actividad biológica varía (Avila-Sosa et al., 2012).

Estos dos compuestos son los responsables de la actividad antimicrobiana del aceite, debido a que ya se han probado de manera individual y han demostrado tener actividad antimicrobiana; el aceite esencial de orégano también ha sido reconocido por su capacidad antioxidante (Avila-Sosa et al., 2012).

El mecanismo de acción del timol y carvacrol es similar debido a que su estructura química es semejante cambiando únicamente la posición del grupo hidroxilo dentro del anillo (García-García et al., 2008); por lo que ambas sustancias actúan

perturbando la membrana citoplasmática e interrumpiendo el flujo de electrones y transporte activo, provocando así la coagulación de la materia celular y, en última instancia, la muerte de la célula (Royo et al., 2010)

La actividad antimicrobiana *in vitro* de películas con aceite esencial de orégano ya ha sido evaluada por varios investigadores, sin embargo, existen datos limitados sobre la aplicación de estas películas en sistemas alimentarios reales (Emiroğlu et al., 2010; Khanjari et al., 2013).

2.3.2 Películas y recubrimientos en carne

Los películas con antimicrobianos son un tipo de envasado prometedor para los productos cárnicos debido a que la contaminación microbiana se produce principalmente en la superficie de los alimentos debido a la manipulación post-procesamiento (Quintavalla & Vicini, 2002).

Dentro de los materiales de envasado bio, las películas y los recubrimientos comestibles han sido estudiados en los últimos años; desarrollando películas y recubrimientos para ser aplicadas en aves de corral, carnes frescas y procesadas (Emiroğlu et al., 2010).

Algunas de las ventajas de la utilización de recubrimientos y películas sobre carne y productos cárnicos comestibles se han discutido por Quintavalla & Vicini, (2002).

Los recubrimientos comestibles podrían presentar ventajas como:

- Reducir la pérdida de humedad durante el almacenamiento de carnes frescas o congeladas.
- Mantener los jugos de cortes de carnes y aves frescas envasadas en bandejas de plástico.
- Reducir la oxidación de lípidos y la oxidación de la mioglobina.

- Reducir la carga de patógenos y de deterioro por microorganismos en la superficie de las carnes.

Los recubrimientos comestibles que llevan antioxidantes o agentes antimicrobianos se pueden usar para el tratamiento directo de las superficies de la carne (Quintavalla & Vicini, 2002).

ANTECEDENTES

3. ANTECEDENTES

Zivanovic et al. (2005). Evaluaron las propiedades antimicrobianas de películas de quitosano enriquecidos con aceites esenciales (AE) anís, albahaca, cilantro y orégano, las cuales fueron aplicadas en bologna contra *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157: H7. Las películas que solo tenían quitosano redujeron 2 log UFC/g *L. monocytogenes* mientras que las películas con 2% de AE de orégano disminuyeron 4 log UFC/g de *L. monocytogenes* y 3 log UFC/g de *E. coli*. Por lo que, se concluye que estas películas tienen el potencial para ser utilizadas como películas biodegradables activos con fuertes efectos antimicrobianos.

Ye et al. (2008). Evaluaron la eficacia antilisterial de películas plásticas recubiertas de quitosano puro y con la finalidad de mejorar la eficacia antimicrobiana incorporaron antimicrobianos (GRAS) que fueron nisina, lactato de sodio, diacetato de sodio, sorbato de potasio y benzoato de sodio; estas se aplicaron en filetes de jamón que estaban inoculados en la superficie con *L. monocytogenes*, fueron almacenados durante 12 semanas a 4 °C. La película plástica recubierta de quitosano adicionada con lactato de sodio fue la película antimicrobiana más eficaz contra *L. monocytogenes* reduciendo 1.9 log UFC/cm². Por lo que, estas tienen el potencial para ser utilizadas en filetes de jamón para el control de *L. monocytogenes*.

Khanjari et al. (2013). Realizaron un recubrimiento con N, O-carboximetil quitosano (NOCC), aceite esencial de orégano (AEO) y la combinación de ellos, en el control de *Listeria monocytogenes* que fue inoculada a una concentración de 10⁵ UFC/g en filetes de pechuga de pollo, las muestras se almacenaron a 4 °C durante 14 días. Encontrando que el tratamiento de la combinación del NOCC y AEO al 1% logro inhibir *L. monocytogenes* en el día 4 de almacenamiento mientras que el tratamiento control presentó una carga bacteriana de 5.97 log UFC/g. Concluyendo que la combinación de estos agentes antimicrobianos extiende la vida útil de los filetes de pollo.

Merlín-Sosa (2015). Elaboró una película activa bicapa de quitosano adicionada con aceite de orégano; evaluando su actividad antimicrobiana contra *Listeria innocua* por la técnica de difusión en agar por discos; así como sus propiedades físicas. Encontrando que la película de quitosano con aceite esencial de orégano al 3% fue la que obtuvo los mayores halos de inhibición contra *L. innocua*. Determinando que esta película puede ser considerada como una película activa con efecto antimicrobiano que podría ser aplicada para la conservación de productos cárnicos.

JUSTIFICACIÓN

4. JUSTIFICACIÓN

La carne debido a sus características como el pH, actividad de agua y riqueza de nutrientes es susceptible a la descomposición, por lo que es necesario buscar alternativas que permitan su conservación y mayor vida de anaquel. La cual podría ser una película activa bicapa de quitosano y aceite esencial de orégano para alargar la vida de anaquel de la carne de res dando al consumidor un beneficio sensorial, nutricional y de inocuidad.

OBJETIVOS

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de una película activa bicapa de quitosano y aceite esencial de orégano en la conservación de carne de res.

5.2 Objetivos Específicos

- Realizar la caracterización fisicoquímica de la carne fresca.
- Determinar el efecto antimicrobiano de la película de quitosano y aceite esencial sobre *Listeria innocua* en carne de res cruda envasada al vacío y sin vacío.
- Conocer las características físico-químicas de la carne cruda con y sin la aplicación de la película de quitosano y aceite esencial, envasada al vacío y sin vacío.
- Determinar el efecto antimicrobiano de películas de quitosano y aceite esencial sobre *L. innocua* en carne de res asada envasada al vacío y sin vacío.
- Conocer el nivel de aceptación de la carne envasada con la película por los consumidores.

MATERIALES Y MÉTODOS

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Materiales

Para la elaboración de la película se utilizó: Quitosano (Qo, Sigma- Aldrich, peso molecular medio PMM, 70-85% desacetilación, JAPÓN), Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC, Sigma-Aldrich, E.U.A) glicerol (Omnichem, MÉXICO); etanol absoluto (Reasol, MÉXICO), ácido acético glacial (Golden Bell, MÉXICO), aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) de Reasol Co., México DF., MÉXICO; como soporte estructural se utilizó una película comercial Kleen pack, marca Pétalo, MÉXICO, y placas de vidrio. Para el envasado se utilizaron bolsas de polietileno, y la selladora al vacío (Marca Orved). Para la inoculación de *Listeria* se utilizó como cepa sensible *Listeria innocua* AST: 062, donada por el Instituto Tecnológico de Veracruz.

6.2 Elaboración de las películas

Las películas bicapas se elaboraron siguiendo la técnica de vaciado en placa establecida por Merlín-Sosa, (2015). Se disolvió el quitosano (Qo) de peso molecular medio 1.5% p/v en ácido acético al 1% v/v, se mantuvo en agitación en una placa de cerámica con agitador magnético utilizando una barra magnética 1000 rpm durante 24 h y se filtró. Se disolvió hidroxipropilmetilcelulosa al 1% p/v en una relación 2:1 etanol:agua destilada a 80 °C se agitó por 30 min a las mismas rpm. Posteriormente, las soluciones de Qo e HPMC se mezclaron en volúmenes iguales (50:50) y se mantuvo en agitación por 10 min. Se le agregó 3% (v/v) de aceite esencial de orégano manteniendo en agitación por 10 min a las revoluciones por minuto anteriormente mencionadas y por último se le agregaron 2 mL (v/v) de glicerol como plastificante, la solución se mantuvo en agitación por 10 min a las mismas revoluciones. A la placa de vidrio se le colocó la base polimérica (Kleen pack®), se vació la solución formadora de películas y fueron secadas en la estufa marca Riosa a 30 ± 5 °C por 48 h. Una vez seca la solución, se desarmó el molde y se desmoldó la película, para su utilización inmediata.

6.3 Preparación de las muestras de carne cruda

La carne de res fresca fue adquirida en un negocio local tipo TIF de la ciudad de Tuxtepec, Oaxaca y se transportó a las instalaciones del Instituto Tecnológico de Tuxtepec. Se cortaron medallones de aproximadamente de 6 cm de diámetro y 2 cm de grosor. Para ser envasados de acuerdo al diseño experimental (Tabla 1) y fueron almacenados a ≈ 5 °C durante 14 días.

6.4 Preparación de las muestras de carne asada

Se utilizaron medallones del mismo tamaño que la carne cruda. Se realizó un salado en seco utilizando una proporción de 1 g de sal/100 g de carne distribuido de manera homogénea en ambos lados del medallón de carne; posteriormente se realizó el asado en una parrilla a una temperatura de 280 °C con un tiempo total de 7 min y 40 s de cada lado, considerando mantener la carne durante 3 min y 30 s de un lado, se voltea la carne y se deja durante 3 min y 30 s del otro lado, se voltea nuevamente y se deja durante 2 min y 40 s en ambos lados y finalmente 1 min y 30 s en cada lado del medallón.

6.5 Inoculación de la carne con *Listeria innocua*

Los medallones de res fueron inoculado con un total 105 μ L de la dilución 10^{-5} del cultivo de *Listeria innocua* (Merlín-Sosa, 2015) para carne cruda; y con 105 μ L de la dilución 10^{-3} del cultivo de *Listeria innocua* (Khanjari et al., 2013) en carne asada; se extendió sobre un lado de la superficie del medallón y las muestras se dejaron en reposo durante 5 min para permitir la adherencia de la células de *Listeria innocua* al tejido de la carne que el inóculo y las células se unieran, para posteriormente inocular el otro lado de la carne (Ye et al., 2008), se dejó en reposo 5 min y posteriormente se envasaron de acuerdo al diseño experimental.

6.6 Análisis de las muestras de carne cruda.

6.6.1 Diseño Experimental.

Se realizó un diseño factorial a dos niveles 2^k ($k = 3$), inóculo (con *Listeria innocua* y sin *Listeria innocua*), recubrimiento (con película y sin película), tipo de envasado (al vacío y sin vacío) son los tratamientos estudiados.

Los tratamientos fueron envasados de acuerdo al diseño experimental que se muestra en la Tabla 1, con un total de 8 tratamientos; 2 controles; el tratamiento control 1 (C-1): con inóculo, sin película y sin vacío; y el control 2 (C-2): sin inóculo, sin película, sin vacío. Las variables de respuesta fueron la cuantificación de *Salmonella*, *S. aureus*, y *Listeria innocua*; así como la determinación de pH y capacidad de retención de agua.

Tabla 1. Diseño de experimentos para carne cruda

Tratamiento	Factores			Código
	Inoculo	Película	Vacío	
1	7.42UFC/g (1)	C (1)	C (1)	C-IPV
2	7.42UFC/g (1)	S (0)	S (0)	C-IP
3	7.42UFC/g (1)	C (1)	C (1)	C-IV
4	7.42UFC/g (1)	S (0)	S (0)	C-1
5	5.99UFC/g (0)	C (1)	C (1)	C-PV
6	5.99UFC/g (0)	S (0)	S (0)	C-P
7	5.99UFC/g (0)	C (1)	C (1)	C-V
8	5.99UFC/g (0)	S (0)	S (0)	C-2

6.6.2 Análisis microbiológico

Se realizó siguiendo la metodología establecida por las Normas Oficiales Mexicanas 114, 115, 143; a los días 0, 7, y 14 de almacenamiento, para cada uno de los tratamientos.

Para la cuantificación de *S. aureus* se siguió la metodología establecida por la NOM-115-SSA1-1994 que consistía en licuar 10 g de muestra en agua peptonada, posteriormente se realizaron diluciones decimales en agua peptonada y se sembró 1 mL de la dilución en agar Baird Parker, este se incubó durante 48 h a 35 ± 2 °C.

Salmonella se cuantificó de acuerdo a lo establecido en la NOM-114-SSA1-1994 se licuaron 25 g de carne en caldo lactosado se incubó durante 24 h a 35 ± 2 °C, se realizaron diluciones decimales y se sembró por estría en agar *Salmonella-Shigella*, se incubó a 35 ± 2 °C durante 24 h.

Para *Listeria monocytogenes* se realizó conforme a lo establecido en la NOM-143-SSA1-1995 se licuó 25 g de muestra en caldo soya tripticaseina con extracto de levadura y se incubó durante 24 h a 35 ± 2 °C, se realizó la siembra por difusión en agar soya tripticasa y se incubó a 35 ± 2 °C durante 24 h.

6.6.3 Determinación de pH

La determinación de pH se realizó con un potenciómetro (ULTRABASIC DENVER UB-10®), previamente calibrado con tres soluciones buffer pH 4, 7 y 11. La carne se perforó y se introdujo el electrodo de manera perpendicular a la masa muscular y se realizó la medición, este procedimiento se realizó 3 veces en diferentes lugares del medallón (Braña, 2011). Se realizó el día 0, 7 y 14 de almacenamiento.

6.6.4 Capacidad de retención de agua (CRA)

En el día 0, 7 y 14 de almacenamiento, 5 g de carne fueron picadas finamente, se colocaron en tubos para centrifuga con 8 mL de NaCl 0.6 M, se agitó manualmente con una varilla de vidrio durante 1 min y fueron introducidas en un baño de hielo durante 30 min, nuevamente se agitó por 1 min y se centrifugó en la centrifuga refrigerada modelo Rotina 380R, Hettich Zentrifugen, Alemania a 5,000 rpm a 4 °C durante 15 min, se recogió el sobrenadante por decantación, se midió el volumen final y la CRA se calculó utilizando la ecuación 1 (Braña, 2011).

$$CRA = \frac{\text{Solución añadida a la muestra (g)} - \text{Solución eliminada (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} * 100 \quad (1)$$

6.6.5 Análisis químico proximal (AQP)

El AQP se realizó a los tratamientos que no fueron inoculados con *Listeria innocua*, en los días 0, 7 y 14 siguiendo las técnicas descritas por la AOAC.

- Humedad por pérdida de peso (925.10, AOAC, 2005).
- Cenizas por calcinación (923.03, AOAC, 2005).
- Gasas en equipo Soxhlet (920.39, AOAC, 2005).
- Proteínas en equipo Kjeldahl (920.87, AOAC, 1995).

6.6.6 Determinación de color

Se realizó en las instalaciones del Instituto Tecnológico de Tuxtepec a los tratamientos que no fueron inoculados, utilizando un colorímetro UltraScan Vis, Hunter Associates Laboratory Inc., EUA; con un intervalo de barrido de 360-780 nm. Analizando los parámetros de a* (rojo-verde), b* (amarillo-azul), L* (Luminosidad) y determinando diferencia de color (ΔE) utilizando la ecuación 2 y diferencia total de a* (Δa^*) con la ecuación 3. El equipo fue calibrado con una placa estándar blanca.

$$\Delta E = [\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]^{1/2} \quad (2)$$

$$\Delta a^* = a^*_{inicial} - a^*_{muestra} \quad (3)$$

donde:

$\Delta L^* = L^* \text{ testigo} - L^* \text{ muestra}$

$\Delta a^* = a^* \text{ testigo} - a^* \text{ muestra}$

$\Delta b^* = b^* \text{ testigo} - b^* \text{ muestra}$

6.6.7 Determinación de Textura

Se realizó en un texturómetro TA-XT Plus, Stable Microsystems Inc, Reino Unido, utilizando rectángulos de aproximadamente 1 cm de largo, 0.5 cm de ancho, 2 cm de altura, se utilizó una sonda de compresión cilíndrica de aluminio con 75 mm de diámetro (P/75), donde se determinó la dureza de la carne, expresada como la máxima fuerza necesaria para la primera compresión de la muestra en Newtons (N).

6.7 Análisis de las muestras de carne asada

6.7.1 Diseño experimental

Se realizó un diseño factorial de dos niveles 2^k ($k=2$), recubrimiento (con película y sin película), tipo de envasado (al vacío y sin vacío).

Los tratamientos de carne asada fueron envasados de acuerdo al diseño experimental (Tabla 2), con un total de 4 tratamientos; teniendo como tratamiento control el tratamiento envasado sin película y sin vacío. Las variables de respuesta fueron la cuantificación de *Listeria innocua*, la determinación de dureza y el análisis químico proximal.

Tabla 2. Diseño de experimentos para carne asada

Tratamiento	Factores		Código
	Película	Vacío	
1	C (1)	C (1)	C-IPV
2	S (0)	S (0)	C-IP
3	C (1)	C (1)	C-IV
4	S (0)	S (0)	C-1

6.7.2 Análisis microbiológico

Se realizó siguiendo la metodología establecida por la Norma Oficial Mexicana NOM-143-SSA1-1995, los días 0, 7, y 14 de almacenamiento, para cada uno de los tratamientos.

6.7.3 Análisis químico proximal (AQP)

El AQP se realizó los días 0, 7 y 14 siguiendo las técnicas descritas por la AOAC, como se describe en el apartado 6.6.5.

6.7.4 Determinación de textura

Se determinó la dureza en la carne asada, que se realizó de acuerdo a lo descrito en el apartado 6.6.7.

6.7.5 Prueba de aceptación dirigida al consumidor

Considerando los resultados del análisis microbiológico se seleccionó el tratamiento que estaba envasado con película y vacío y almacenado durante 7 días a 5 °C, para realizarle la prueba de aceptación dirigida al consumidor. Dicha prueba se realizó

utilizando una escala hedónica de 9 puntos que va desde me disgusta muchísimo hasta me gusta muchísimo se muestra en el Anexo 1. Después de 7 días de almacenamiento, se desempaco la carne y se realizó un salado en seco al 1%; se precalentó la parrilla durante 10 min a 280 °C, posteriormente se colocó la carne y se realizó el asado durante 7 min 40 s de cada lado del medallón. Posteriormente se realizó la prueba de aceptación a 100 consumidores.

6.8 Análisis estadístico

Todos los análisis fueron realizados por triplicado y se calcularon las medias y desviación estándar de las determinaciones en los distintos tratamientos, se compararon mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA) de una vía seguido de una prueba de comparación de medias de Tukey a un nivel de significancia de 0.05, utilizando el paquete estadístico Minitab® versión 17.

RESULTADOS

7. RESULTADOS

7.1 Análisis de la carne fresca

7.1.1 Análisis Químico Proximal

La composición químico proximal de la carne cruda utilizada en este estudio se muestra en la Tabla 3; donde se observa que el contenido de humedad es de 74.79%, proteína de 22.65%, grasa de 1.32% y cenizas de 0.95%; la cual es similar a lo reportado por la FAO, (2016) ya que ésta presenta un contenido de humedad del 75%, proteína 22.3%, grasa 1.8% y cenizas 1.2%; y por Arenas de Moreno et al. (2000) reportan una humedad de 73%, proteínas 22.3%, lípidos 2.57%, cenizas 1.28%.

Tabla 3. Análisis Químico Proximal de la carne fresca cruda.

Parámetros	Contenido (%)
Humedad	74.79 ± 0.10
Materia seca	25.21 ± 0.18
Proteína	22.65 ± 0.23
Grasa	1.32 ± 0.06
Cenizas	0.95 ± 0.14

Valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar.

7.1.2 Caracterización fisicoquímica de la carne fresca

En la caracterización fisicoquímica de la carne fresca se determinó la capacidad de retención de agua (CRA), pH, los parámetros de color L*, a*, b* y la dureza de la carne fresca los resultados se muestran en la Tabla 4.

La CRA es la capacidad de la carne para retener total o parcialmente el agua propia o añadida, tiene una fuerte repercusión en las características sensoriales, valor nutritivo, comercial (Braña-Varela et al., 2011). Se encontró que la CRA de la carne fresca fue de 11.96 mL retenido de agua/100 g de carne (Tabla 4); Marcos & Mullen, (2014) reportan el valor de la CRA de 21.80 mL retenido de agua/100 g de carne de res; y Chan et al. (2011) la reportan de 18.2 mL de agua; estas diferencias se pueden atribuir a que existen algunos factores postmortem como la disminución del pH, proteólisis y la oxidación de proteínas que son clave para influir en la capacidad de la carne para retener el agua, debido a que gran parte del agua en el músculo está atrapado en las estructuras de la célula; por lo tanto, cambios en la arquitectura intracelular de la célula influyen en la capacidad de las células musculares para retener el agua (Montowska & Pospiech, 2013).

El pH de la carne fresca fue de 5.33 (Tabla 4), mientras el pH reportado por Suman et al., (2011) fue de 5.8 y lo reportado por Hulankova et al. (2013) fue de 5.38; Jeleníková et al. (2008) mencionan que el pH final de la carne muestra una relación directa con el estrés ante mortem el cual implica modificaciones importantes en la bioquímica post-mortem del músculo y la calidad de la carne. El principal efecto se ejerce a través de su influencia en la movilización de las reservas de glucógeno muscular; si estos se reducen o se agotan antes del sacrificio se reduce el grado de acidificación post-mortem generando un pH bajo.

En cuanto al color es el principal parámetro que utilizan los consumidores para evaluar la calidad y la aceptabilidad de la carne este atributo se asocia con el sabor, la ternura, sanidad, tiempo de almacenamiento, y valor nutricional; cuando el consumidor considera inaceptable el color de la carne, los demás atributos no son importantes (Chamorro-Ramírez, 2015).

En los resultados obtenidos de los parámetros de color de la carne fresca que se muestran en la Tabla 4; en el parámetro de luminosidad resultó menor que lo reportado por Abril et al. (2001) quien obtuvo un valor de 37.2; esto significa que la carne utilizada en este estudio fue más oscura con un valor $L^* = 36.58$, ya que la

luminosidad corresponde al brillo de la carne (Vilela et al., 2016); esto se puede deber a que la luminosidad está relacionada con el estado, tamaño y posición de las fibras musculares, además de la cantidad de agua que contenga la carne (Chamorro-Ramírez, 2015).

En lo que respecta al parámetro a^* se encontró un valor de 17.19; siendo menor a lo reportado por Paparella et al. (2016) que fue 17.35, y superior a lo reportado por Park et al. (2010) quienes reportan el valor de $a^* = 14.77$ en carne de res. De acuerdo con Chamorro-Ramírez, (2015) este parámetro es la tendencia hacia el color rojo lo que indica la cantidad de mioglobina presente en la carne; por lo tanto, esta carne presentó alta cantidad de mioglobina, esto se puede deber a la procedencia del corte de carne utilizado.

Por otro lado, el parámetro b^* nos indica la tendencia hacia el color amarillo. En este estudio se encontró un valor de 12.51 el cual fue superior a lo reportado por Park et al. (2010) que fue de 11.05; de acuerdo a Chamorro-Ramírez, (2015) este parámetro podría determinar el estado químico en que se encuentre la mioglobina; sin embargo la formación de metabioglobina (mioglobina oxidada) y deoximioglobina (reducida) depende de numerosos factores tales como la presión parcial de oxígeno, temperatura, pH y el crecimiento microbiano (Mancini & Hunt, 2005; Abril et al., 2001).

La carne presentó una dureza de 386.512 N. (Tabla 4), Lee et al. (2016) determinaron una dureza del músculo dorsal de carne de res de 402.366 N, cabe hacer mención que la dureza en carne está influenciada por la edad del animal, el sexo, el pH en carne y la procedencia de la carne en cuanto a la posición en la canal.

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas de la carne fresca

Determinación	Carne fresca
CRA (mL retenidos /100g de carne)	12.89 ± 1.13
pH	5.33 ± 0.18
Color	
L*	36.58 ± 0.59
a*	17.19 ± 0.47
b*	12.51 ± 0.87
Textura	
Dureza (N)	386.512 ± 0.01
Valores promedio de 3 repeticiones ± Desviación estándar.	

7.1.3 Análisis Microbiológico

En los resultados del análisis microbiológico (Tabla 5), se encontró que de acuerdo a los límites máximos establecidos por la NOM-034-SSA1-1993 permite 1000 UFC/g de *S. aureus*, pero *Salmonella* y *L. monocytogenes* debe estar ausente, sin embargo, la carga bacteriana inicial de *L. monocytogenes* fue de 5.99 log UFC/g, es decir la carne se encontraba fuera de norma, esta contaminación pudo haber sucedido en la manipulación de la carne, donde los operarios no hicieron uso de las buenas prácticas de procesamiento de la misma.

Tabla 5. Análisis Microbiológico

Muestra	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Carne Fresca	Ausente en 25 g de muestra	Ausente en 30 g de muestra	5.99 ± 0.12 log UFC/g

Valores promedio de 3 repeticiones ± Desviación estándar.

7.2 Evaluación del efecto antimicrobiano de las películas de Qo y AEO en carne de res cruda

Los resultados obtenidos del efecto antimicrobiano de las películas de quitosano durante el almacenamiento se muestran en la Tabla 6, donde se observa que en los tratamientos C-IPV y C-IP se logró reducir 3.28 log UFC/g en el día 7 que equivale a un 41.3% de reducción en relación al tratamiento control, y 3.39 log UFC/g en el día 14 que equivale al 40.2% de reducción microbiana en función al control; el tratamiento C-IV redujo 0.51 log UFC/g en el día 7 lo que equivale a un 6.5% y 0.37 log UFC/g en el día 14 equivalente a 4.5%, mientras el tratamiento control 1 alcanzó una concentración de *Listeria* de 8.44 log UFC/g, incrementando 1.05 log UFC/g en el día 14. Por lo tanto, se puede aseverar que la aplicación de la película favorece un porcentaje de reducción microbiana de aproximadamente 40% durante 14 días de almacenamiento de la carne a 5 °C.

En los tratamientos C-PV, C-P se redujo 3.05 log UFC/g en el día 7 equivalente a una reducción del 44% y 3.01 log UFC/g en el día 14 lo que equivale al 41.1% de reducción, el tratamiento C-V se redujo 0.41 log UFC/g en el día 7, equivalente a 5.9% y 0.53 log UFC/g en el día 14 equivalente a una reducción del 7.2%; el tratamiento control 2 alcanzó una cuenta final de 7.31 log UFC/g, incrementando 1.32 log UFC/g para el día 14.

Tabla 6. Efecto antimicrobiano de películas de quitosano con aceite esencial de orégano en medallones de Top Sirloin de res contra *Listeria innocua* (Log UFC/g) almacenada a ≈ 5 °C.

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-IPV	7.38 \pm 0.12 ^{aA}	4.69 \pm 0.07 ^{cE}	5.04 \pm 0.06 ^{bE}
C-IP	7.38 \pm 0.12 ^{aA}	4.92 \pm 0.05 ^{cE}	5.29 \pm 0.01 ^{bE}
C-IV	7.38 \pm 0.12 ^{bA}	7.46 \pm 0.35 ^{bB}	8.06 \pm 0.29 ^{aB}
C-1	7.38 \pm 0.12 ^{aA}	7.98 \pm 0.07 ^{bA}	8.44 \pm 0.09 ^{cA}
C-PV	5.99 \pm 0.04 ^{aB}	3.88 \pm 0.05 ^{cF}	4.30 \pm 0.02 ^{bF}
C-P	5.99 \pm 0.04 ^{aB}	4.13 \pm 0.12 ^{cF}	4.56 \pm 0.10 ^{bF}
C-V	5.99 \pm 0.04 ^{cB}	6.53 \pm 0.07 ^{bD}	6.78 \pm 0.06 ^{aD}
C-2	5.99 \pm 0.04 ^{cB}	6.94 \pm 0.06 ^{bC}	7.31 \pm 0.04 ^{aC}

Valores promedio de 3 repeticiones \pm Desviación estándar. Los valores con diferente letra minúscula indican diferencia significativa en los días de almacenamiento; letra mayúscula indica diferencia entre los tratamientos. Tratamiento (C-IPV): Con inóculo, película, vacío; (C-IP): Con inóculo, película, sin vacío; (C-IV): Con inóculo, vacío; (C-1) Control-1: Con inóculo; (C-PV): Con película y vacío; (C-P): Con película; (C-V): Con vacío; (C-2) Control-2: Sin inóculo, sin película y sin vacío.

Se encontró que no existe un efecto sinérgico ($p > 0.05$) entre la aplicación de la película y el tipo de envasado que se utilice, independientemente de que se inocule o no *Listeria* en la carne, esto es que la utilización de vacío en el envasado no tiene efecto en la disminución en la cuenta microbiana, por lo que el efecto antimicrobiano se debe únicamente a la película de quitosano ya que esta se encuentra en contacto directo con la carne favoreciendo esta disminución.

Considerando estos resultados, se concluye que la película de quitosano con aceite esencial de orégano favorece la disminución de la carga microbiana, lo que no se observó en los tratamientos envasados sin película; esto se podría atribuir a los componentes principales de la película que son el quitosano y aceite esencial de

orégano, los cuales han demostrado tener propiedades antimicrobianas, de acuerdo con (Dutta et al., 2009) el mecanismo de acción del quitosano se debe a la interacción del grupo amino cargado positivamente, con los residuos de macromoléculas cargados negativamente que se encuentran en la superficie celular microbiana (Siripatrawan & Noipha, 2012), y el aceite esencial de orégano debido a que una de las características importantes de los aceites esenciales y sus componentes es su hidrofobicidad que les permite interactuar en los lípidos de la membrana celular bacteriana y las mitocondrias, alterando las estructuras y haciéndolas más permeables (Burt, 2004). Sin embargo, la acción antimicrobiana depende de ciertos factores como el tipo de microorganismo, el pH del medio así como la temperatura; el efecto inhibitorio del timol, que es uno de los principales compuestos fenólicos presentes en el aceite esencial de orégano, es mayor en un pH de 5.5, debido a que la molécula del agente antimicrobiano está disociada, logrando unir mejor las partes hidrofóbicas de las proteínas, facilitando la disolución de la fase lipídica de la membrana (García-García et al., 2008)

La unión de estos agentes antimicrobianos en la película produce un efecto sinérgico que permite la reducción de la cuenta microbiana en la carne; dicha sinergia ya se ha demostrado en otros estudios tales como el de Zivanovic et al. (2005) que demostraron la eficacia antimicrobiana de películas de quitosano (1.5%) y aceite esencial de orégano (2%) reduciendo 4 log de *Listeria monocytogenes* en bologna; también Khanjari et al. (2013) demostraron que la combinación de N,O-carboximetil quitosano y aceite esencial de orégano inhibió *L. monocytogenes* en filetes de pollo a partir del día 2 de almacenamiento; estos y otros estudios han demostrado la efectividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano, debido a la presencia de los compuestos fenólicos, sin embargo las diferencias en la eficacia antimicrobiana de las películas y recubrimientos a base de quitosano y aceite esencial reportados en la literatura se debe a la concentración en que se encuentran presentes dichos compuestos y a la variedad vegetal, su origen, el tiempo de cosecha, las condiciones de procesamiento y almacenamiento (Zivanovic et al., 2005).

7.3 Caracterización fisicoquímica de los tratamientos durante el almacenamiento.

7.3.1 Análisis Químico Proximal

Los resultados del AQP durante el almacenamiento se muestran en la Tabla 7 donde se observa que el contenido de humedad de los tratamientos que estaban envasados con película disminuyó significativamente ($p < 0.05$) durante el almacenamiento. De acuerdo con Atarés & Chiralt, (2016) mencionan que al incorporar un compuesto hidrofóbico como ingrediente en la elaboración de películas no garantiza que la permeabilidad al vapor de agua aumente ya que ésta se verá afectada por el estado físico del aceite y por la mezcla entre los componentes de la película; por lo tanto se supone que la interacción de la película con la carne favoreció la eliminación de humedad.

Tabla 7. Contenido de humedad (%) de los tratamientos almacenados durante 14 días

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-PV	74.462 ± 0.683 ^{aA}	70.410 ± 1.138 ^{bB}	67.531 ± 0.891 ^{cC}
C-P	74.462 ± 0.683 ^{aA}	71.180 ± 0.744 ^{bB}	69.903 ± 1.112 ^{bB}
C-V	74.462 ± 0.683 ^{aA}	74.425 ± 0.203 ^{aA}	74.354 ± 0.648 ^{aA}
C-2	74.462 ± 0.683 ^{aA}	74.494 ± 0.184 ^{aA}	74.464 ± 0.497 ^{aA}

Valores promedio de 3 repeticiones ± Desviación estándar. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa entre los días de almacenamiento (filas) y las mayúsculas entre los tratamientos (columnas). Tratamiento (C-PV): Con película y vacío; (C-P): Con película; (C-V): Con vacío; (C-2) Control-2: Sin inóculo, sin película y sin vacío.

En la determinación de proteínas (Tabla 8) y cenizas (Tabla 9) se observó una disminución en todos los tratamientos durante el almacenamiento, de acuerdo con Montowska & Pospiech (2013) la carne tiene proteínas de baja estabilidad que durante el envejecimiento van disminuyendo considerablemente, algunas de ellas

se degradan totalmente. De acuerdo con Maqsood et al. (2015) en el día 9 de almacenamiento las proteínas de carne de camello tratadas con compuestos fenólicos presentaron degradación de actina, miosina, α -tropomiosina, β -tropomiosina; quienes atribuyen estos resultados a la oxidación de las proteínas que se cree resulta en la fragmentación y degradación de la proteína estructural.

Tabla 8. Contenido de proteína (% b.s.) de los tratamientos almacenados durante 14 días

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-PV	84.21 \pm 0.20 ^{aA}	76.30 \pm 0.17 ^{bA}	71.11 \pm 0.39 ^{cA}
C-P	84.21 \pm 0.20 ^{aA}	75.44 \pm 0.69 ^{bA}	70.76 \pm 0.79 ^{cA}
C-V	84.21 \pm 0.20 ^{aA}	80.03 \pm 0.14 ^{bA}	73.01 \pm 0.88 ^{cA}
C-2	84.21 \pm 0.20 ^{aA}	79.88 \pm 0.97 ^{bA}	73.16 \pm 1.10 ^{cA}

Valores promedio de 3 repeticiones \pm Desviación estándar. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa entre los días de almacenamiento (filas) y las mayúsculas entre los tratamientos (columnas). Tratamiento (C-PV): Con película y vacío; (C-P): Con película; (C-V): Con vacío; (C-2) Control-2: Sin inóculo, sin película y sin vacío.

Tabla 9. Contenido de cenizas (% b.s.) en los tratamientos almacenados durante 14 días.

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-PV	4.51 \pm 0.15 ^{aA}	3.30 \pm 0.02 ^{bA}	2.34 \pm 0.07 ^{cA}
C-P	4.51 \pm 0.15 ^{aA}	3.43 \pm 0.06 ^{aA}	3.39 \pm 0.52 ^{aA}
C-V	4.51 \pm 0.15 ^{aA}	3.53 \pm 0.13 ^{bA}	3.23 \pm 0.14 ^{bA}
C-2	4.51 \pm 0.15 ^{aA}	3.38 \pm 0.02 ^{bA}	2.95 \pm 0.08 ^{cA}

Valores promedio de 3 repeticiones \pm Desviación estándar. Letras diferentes en minúscula indican diferencia significativa entre los días de almacenamiento (filas) y las mayúsculas entre los tratamientos (columnas). Tratamiento (C-PV): Con película y vacío; (C-P): Con película; (C-V): Con vacío; (C-2) Control-2: Sin inóculo, sin película y sin vacío.

7.3.2 Capacidad de Retención de Agua

De acuerdo a los resultados obtenidos durante los 14 días de almacenamiento que se muestran en la Tabla 10 se observó que los tratamientos que estaban envasados con película mostraron una disminución aproximada de 2 mL/100 g en la CRA en el día 7 de almacenamiento y de 3.9 mL/100 g en el día 14. De acuerdo con Marcos & Mullen, (2014) las proteínas miofibrilares como la miosina y actina, son los principales componentes vinculados al agua en el tejido muscular. La pérdida de estas proteínas es una posible causa de la disminución de la capacidad de retención de agua.

Esta disminución de la CRA también puede ser atribuido a que el punto isoeléctrico de las proteínas de la carne es aproximadamente de 5.3 y la CRA es mínima; sin embargo, si el pH es mayor o menor al del punto isoeléctrico entonces la CRA aumenta (Young et al., 2005).

Tabla 10. Efecto de las películas de quitosano con aceite esencial de orégano sobre la CRA (mL retenidos/100 g de carne) de Top Sirloin de res.

Tratamiento	Día 0	Día 7	Día 14
C-IPV	11.98 ± 0.11 ^{aA}	9.87 ± 2.04 ^{bB}	7.94 ± 0.03 ^{cC}
C-IP	11.98 ± 0.11 ^{aA}	10.28 ± 0.19 ^{bAB}	9.88 ± 0.11 ^{cABC}
C-IV	11.98 ± 0.11 ^{aA}	11.82 ± 0.07 ^{aAB}	11.86 ± 0.02 ^{aAB}
C-1	11.98 ± 0.11 ^{aA}	11.87 ± 0.03 ^{aAB}	11.90 ± 0.08 ^{aAB}
C-PV	12.89 ± 1.13 ^{aA}	10.12 ± 1.40 ^{abAB}	7.91 ± 1.37 ^{bC}
C-P	12.89 ± 1.13 ^{aA}	9.91 ± 0.01 ^{bB}	8.91 ± 0.63 ^{cBC}
C-V	12.89 ± 1.13 ^{aA}	12.89 ± 1.38 ^{aA}	12.89 ± 1.35 ^{aA}
C-2	12.89 ± 1.13 ^{aA}	11.84 ± 0.10 ^{aAB}	11.90 ± 0.03 ^{aAB}

Valores promedio de 3 repeticiones ± Desviación estándar. Los valores con diferente letra minúscula indican diferencia significativa en los días de almacenamiento; letra mayúscula indica diferencia entre los tratamientos. Tratamiento (C-IPV): Con

inóculo, película, vacío; (C-IP): Con inóculo, película; (C-IV): Con inóculo, vacío; (C-1) Control-1: Con inóculo; (C-PV): Con película y vacío; (C-P): Con película; (C-V): Con vacío; (C-2) Control-2: Sin inóculo, sin película y sin vacío.

7.3.3 Determinación del pH de la carne

Durante el almacenamiento (Tabla 11) se observó que los tratamientos que estaban envasados con película tuvieron un incremento en el valor del pH en el día 7 de almacenamiento; Suman et al. (2011) tuvieron un comportamiento similar en los tratamientos que aplicaban 1% de quitosano en la carne de res. Los tratamientos sin película no tuvieron diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el día 0 y el día 7 de almacenamiento. Sin embargo, en el día 14 los tratamientos C-IPV y C-PV no mostraron diferencia respecto al día 7, mientras el resto de los tratamientos tuvieron una disminución del pH lo cual se le puede atribuir a las bacterias presentes en el envasado, esto según lo reportado por Emiroğlu et al., (2010).

Tabla 11. Efecto de la película de quitosano con aceite esencial de orégano sobre el pH de Top Sirloin de res.

Tratamiento	Día 0	Día 7	Día 14
C-IPV	5.27 ± 0.02 ^{ba}	5.52 ± 0.07 ^{aA}	5.43 ± 0.01 ^{aA}
C-IP	5.27 ± 0.02 ^{ba}	5.54 ± 0.03 ^{aA}	5.11 ± 0.11 ^{cB}
C-IV	5.27 ± 0.02 ^{aA}	5.19 ± 0.03 ^{aD}	4.66 ± 0.05 ^{bBC}
C-1	5.27 ± 0.02 ^{aA}	5.26 ± 0.03 ^{aBC}	4.20 ± 0.08 ^{bE}
C-PV	5.33 ± 0.01 ^{ba}	5.45 ± 0.04 ^{aAB}	5.46 ± 0.07 ^{aA}
C-P	5.33 ± 0.01 ^{ba}	5.35 ± 0.03 ^{aBC}	5.12 ± 0.04 ^{cCD}
C-V	5.33 ± 0.01 ^{aA}	5.21 ± 0.01 ^{aD}	4.46 ± 0.03 ^{bD}
C-2	5.33 ± 0.01 ^{aA}	5.28 ± 0.02 ^{aCD}	4.45 ± 0.03 ^{bD}

Valores promedio de 3 repeticiones ± Desviación estándar. Los valores con diferente letra minúscula indican diferencia significativa en los días de almacenamiento; letra mayúscula indica diferencia entre los tratamientos. Tratamiento (C-IPV): Con inóculo, película, vacío; (C-IP): Con inóculo, película,

sin vacío; (C-IV): Con inóculo, vacío; (C-1) Control-1: Con inóculo; (C-PV): Con película y vacío; (C-P): Con Película; (C-V): Con vacío; (C-2) Control-2: Sin inóculo, sin película y sin vacío.

7.3.4 Diferencia total de color (ΔE)

La diferencia de color total (ΔE) es la medida del cambio de color con respecto al color de la muestra original (carne fresca). Todos los tratamientos fueron estadísticamente diferentes en día 7 y día 14 de almacenamiento, por lo tanto, se puede decir que el tipo de envasado utilizado influyó en la retención de color. Para los tratamientos envasados con película (C-PV y C-P) hubo un incremento significativo en los valores de ΔE entre el día 7 y 14 de almacenamiento; sin embargo, el tratamiento C-PV presentó una diferencia de color de 1.75 en el día 7 y de 4.58 en el día 14 de almacenamiento, mientras que el tratamiento control fue de 13.38 en el día 7 y 12.89 en el día 14.

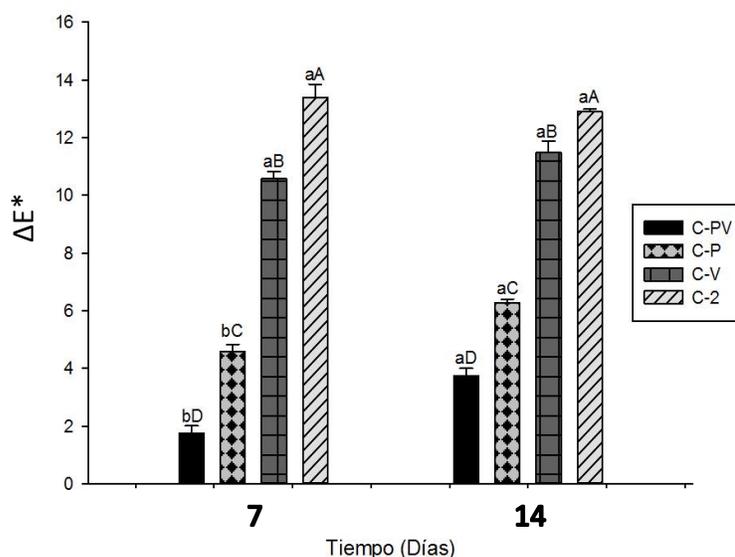


Figura 3. Diferencia total de color (ΔE)

Valores promedio de 3 repeticiones \pm Desviación estándar. Los valores con diferente letra minúscula indican diferencia significativa en los días de almacenamiento; letra mayúscula indica diferencia entre los tratamientos. Tratamiento (C-PV): Con película y vacío; (C-P): Con Película; (C-V): Con vacío; (C-2) Control-2: Sin inóculo, sin película y sin vacío.

Park et al., (2010) analizaron carne roja envuelta en películas de quitosano (1-8%) envasadas al vacío a 3 °C, obteniendo un valor en ΔE de 8.53 en las muestras que tenían el 1% de Qo en el día 7. Esta diferencia total de color es mayor a la encontrada en este trabajo, probablemente debido a las propiedades antioxidantes del quitosano y de los compuestos fenólicos del aceite esencial utilizado en la elaboración de la película.

7.3.5 Diferencia total de a^* (Δa^*)

Los valores positivos de a^* miden el enrojecimiento y se utilizan para medir el color de la carne roja fresca; el valor Δa es la medición de los cambios en los valores de a^* , lo que indica la estabilidad del rojo durante el tiempo de almacenamiento (Park et al., 2010). En la Figura 4 se observa la misma tendencia que en ΔE , hubo un incremento del valor de Δa en el tiempo de almacenamiento para los tratamientos envasados con película. Sin embargo, el tratamiento C-PV tuvo un valor de Δa de 1.80 en el día 7 y de 2.97 en el día 14 de almacenamiento; mientras que en el tratamiento control Δa fue de 11.54 en el día 7 de almacenamiento y 11.89 en el día 14; es decir los tratamientos envasados con película tuvieron los menores cambios en el color rojo, lo cual nos lleva a suponer que la película está ejerciendo un efecto de retención de color.

De acuerdo con Park et al., (2010) el mecanismo de acción del quitosano en la retención de color no ha sido totalmente investigado, sin embargo puede estar relacionado con la capacidad quelante para iones metálicos debido a que sus grupos amino e hidroxilo actúan como donadores de electrones y pueden absorber el hierro férrico (Fe^{3+}) de la metamioglobina, que oxida la carne mediante la generación de radicales libres. Es decir, el hierro libre del tejido de la carne puede ser absorbido por el quitosano y puede estabilizar el color en la superficie de la carne.

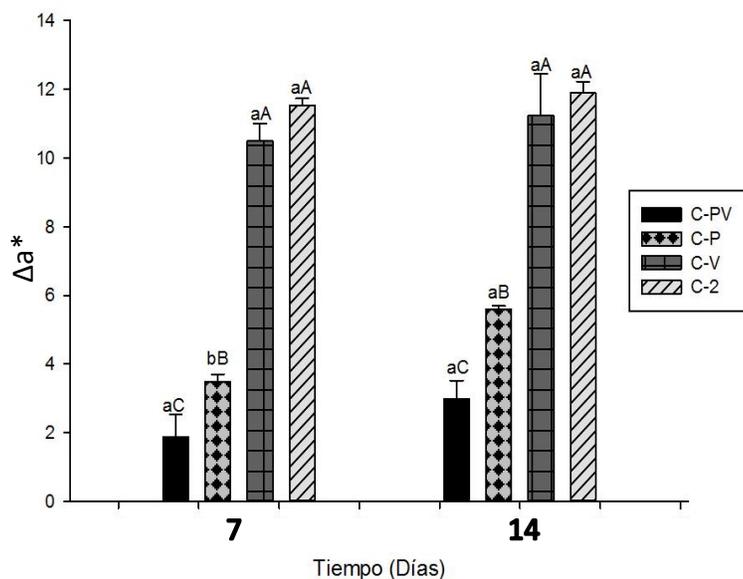


Figura 4. Diferencia total de a^* (Δa^*)

Valores promedio de 3 repeticiones \pm Desviación estándar. Los valores con diferente letra minúscula indican diferencia significativa en los días de almacenamiento; letra mayúscula indica diferencia entre los tratamientos. Tratamiento (C-PV): Con película y vacío; (C-P): Con Película; (C-V): Con vacío; (C-2) Control-2: Sin inóculo, sin película y sin vacío.

7.4 Determinación de textura

En los resultados obtenidos en la determinación de dureza (Tabla 12) se observó que el tratamiento C-PV fue el que presentó una disminución de la dureza durante el almacenamiento, sin embargo, no presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) con el resto de los tratamientos; es decir la aplicación de la película no tuvo efecto sobre la dureza de la carne. Los elementos estructurales y los componentes como el contenido de agua, proteínas, grasa, sal y cenizas afectan en diferentes grados las propiedades de textura de la carne (terneza, dureza, elasticidad, cohesión, gomosidad, masticabilidad). Sin embargo, los principales responsables de la textura en la carne son los componentes estructurales básicos de la carne, como las proteínas miofibrilares y el tejido conjuntivo. (Krzywdzińska-Bartkowiak et al., 2016).

Tabla 12. Dureza (N) de la carne fresca durante los 14 días de almacenamiento

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-PV	386.51±0.002 ^{aA}	386.34±0.001 ^{bA}	386.35±0.002 ^{bA}
C-P	386.51±0.002 ^{aA}	386.35±0.001 ^{abA}	385.92±0.407 ^{aA}
C-V	386.51±0.002 ^{aA}	379.18±1.30 ^{aA}	386.34±0.002 ^{aA}
C-2	386.51±0.002 ^{aA}	386.006±0.591 ^{aA}	385.94± 0.706 ^{aA}

Valores promedio de 3 repeticiones ± Desviación estándar. Los valores con diferente letra minúscula indican diferencia significativa en los días de almacenamiento; letra mayúscula indica diferencia entre los tratamientos. Tratamiento (C-PV): Con película y vacío; (C-P): Con película; (C-V): Con vacío; (C-2) Control-2: Sin inóculo, sin película y sin vacío.

7.5 Efecto antimicrobiano de la película de quitosano y aceite esencial de orégano contra *Listeria innocua* en carne asada

Los resultados obtenidos en muestras de carne asada se muestran en la Tabla 13 donde se observa que los tratamientos C-IPV y C-IP presentaron una eliminación de la carga microbiana a partir del día 7 de almacenamiento; mientras que el tratamiento control presentó una carga de 5.03 log UFC/g en el día 7 de almacenamiento y 4.87 log UFC/g el día 14 durante los 14 días de almacenamiento, al igual que en las muestras de carne fresca la aplicación de vacío no tuvo efecto en los tratamientos envasados con película; por lo tanto, esta reducción de *L. innocua* se debe al efecto antimicrobiano de la película de Qo y AEO tal como sucede en las muestras de carne cruda.

Lo que sugiere que, de existir una posible contaminación por *Listeria* debido a las malas prácticas de manufactura, la aplicación de esta película eliminaría totalmente este microorganismo durante el almacenamiento a temperatura de refrigeración, asegurando el consumo inocuo de este alimento listo para consumir.

Tabla 13. Efecto antimicrobiano de películas de quitosano con aceite esencial de orégano en Sirloin de res asado contra *Listeria innocua* en función al tiempo, almacenado a ≈ 5 °C.

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-IPV	5.41 \pm 0.07 ^{aA}	0.00 \pm 0.00 ^{bC}	0.00 \pm 0.00 ^{bC}
C-IP	5.41 \pm 0.07 ^{aA}	0.00 \pm 0.00 ^{bC}	0.00 \pm 0.00 ^{bC}
C-IV	5.41 \pm 0.07 ^{aA}	4.33 \pm 0.11 ^{bB}	4.10 \pm 0.14 ^{cB}
C-1	5.41 \pm 0.07 ^{aA}	5.03 \pm 0.05 ^{bA}	4.87 \pm 0.06 ^{cA}

Valores promedio de 3 repeticiones \pm Desviación estándar. Los valores con diferente letra minúscula indican diferencia significativa en los días de almacenamiento; letra mayúscula indica diferencia entre los tratamientos. Tratamiento (C-IPV): Con inóculo, Película, Vacío; (C-IP): Con inóculo, película, sin vacío; (C-IV): Con inóculo, vacío; (C-1) Control-1: Con inóculo.

Resultados similares fueron encontrados por Ye et al. (2008) quienes con la utilización de antimicrobianos generalmente reconocidos como seguros (GRAS) lograron inhibir 6.3 log UFC/cm² de *Listeria monocytogenes* en salmón ahumado a las 8 semanas de almacenamiento a 4 °C, utilizando películas plásticas recubiertas de quitosano adicionadas con 4.5 mg/cm² de lactato de sodio y 0.6 mg/cm² sorbato de potasio; también Jiang et al. (2011) utilizaron películas de quitosano con la incorporación de 1.2% de lactato de sodio-0.125% de diacetato de sodio y 0.15% de sorbato de potasio-0.125% de diacetato de sodio logrando la inhibición de 5.2 log UFC/g de *L. monocytogenes* en salmón ahumado almacenado durante 6 días a 4 °C.

7.5.1 Análisis Químico Proximal de carne asada

En el AQP de los tratamientos de carne asada no se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos ni entre los días de almacenamiento en los resultados de humedad (Tabla 14), grasa (Tabla 15), cenizas (Tabla 16); sin embargo, en el contenido de proteína (Tabla 17) hubo diferencia significativa en el

tratamiento C-IPV y C-IP en el día 7 respecto al tratamiento control C-1. En el día 14 el tratamiento C-IPV es significativamente diferente al tratamiento control C-1 mientras que en los tratamientos C-IP, C-IV y C.1 no existe diferencia entre ellos. El calentamiento es el proceso tecnológico más destructivo aplicado a la carne, ya que deteriora principalmente las proteínas de alto peso molecular (Montowska & Pospiech, 2013)

Tabla 14. Contenido de humedad (%) de los tratamientos de carne asada almacenados durante 14 días

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-IPV	64.90 ± 0.97 ^{aA}	62.92 ± 1.35 ^{aA}	61.80 ± 0.63 ^{aA}
C-IP	64.90 ± 0.97 ^{aA}	61.00 ± 0.86 ^{aA}	61.67 ± 2.71 ^{aA}
C-IV	64.90 ± 0.97 ^{aA}	64.25 ± 0.01 ^{aA}	64.43 ± 0.14 ^{aA}
C-1	64.90 ± 0.97 ^{aA}	63.28 ± 1.38 ^{aA}	64.06 ± 0.31 ^{aA}

Valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar. Los valores con la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Tratamiento (C-IPV): Con inóculo, película, vacío; (C-IP): Con inóculo, película, sin vacío; (C-IV): Con inóculo, vacío; (C-1) Control-1: Con inóculo.

Tabla 15. Contenido de grasa (%) de los tratamientos de carne asada almacenados durante 14 días

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-IPV	3.26 ± 0.49 ^{aA}	3.11 ± 0.47 ^{aA}	3.04 ± 0.45 ^{aA}
C-IP	3.26 ± 0.49 ^{aA}	3.27 ± 2.34 ^{aA}	3.15 ± 0.11 ^{aA}
C-IV	3.26 ± 0.49 ^{aA}	3.44 ± 0.20 ^{aA}	3.12 ± 0.82 ^{aA}
C-1	3.26 ± 0.49 ^{aA}	3.21 ± 0.19 ^{aA}	3.48 ± 0.11 ^{aA}

Valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar. Los valores con la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Tratamiento (C-IPV): Con inóculo, película, vacío; (C-IP): Con inóculo, película, sin vacío; (C-IV): Con inóculo, vacío; (C-1) Control-1: Con inóculo.

Tabla 16. Contenido de ceniza (%) de los tratamientos almacenados durante 14 días.

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-IPV	2.06 ± 0.65 ^{aA}	1.05 ± 0.91 ^{aA}	0.78 ± 0.54 ^{aA}
C-IP	2.06 ± 0.65 ^{aA}	1.94 ± 0.27 ^{aA}	2.01 ± 0.55 ^{aA}
C-IV	2.06 ± 0.65 ^{aA}	1.95 ± 0.20 ^{aA}	1.85 ± 0.15 ^{aA}
C-1	2.06 ± 0.65 ^{aA}	1.76 ± 0.09 ^{aA}	0.92 ± 0.79 ^{aA}

Valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar. Los valores con la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Tratamiento (C-IPV): Con inóculo, película, vacío; (C-IP): Con inóculo, película, sin vacío; (C-IV): Con inóculo, vacío; (C-1) Control-1: Con inóculo.

Tabla 17. Contenido de proteína (%) de los tratamientos de carne asada almacenados durante 14 días

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-IPV	79.09 ± 2.74 ^{aA}	73.48 ± 0.24 ^{abB}	71.63 ± 0.24 ^{bC}
C-IP	79.09 ± 2.74 ^{aA}	75.61 ± 0.98 ^{aB}	75.06 ± 2.99 ^{aBC}
C-IV	79.09 ± 2.74 ^{aA}	83.99 ± 2.59 ^{aA}	80.98 ± 0.21 ^{aAB}
C-1	79.09 ± 2.74 ^{aA}	83.04 ± 0.38 ^{aA}	82.32 ± 1.02 ^{aB}

Valores promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar. Los valores con la misma letra en la misma fila no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). Tratamiento (C-IPV): Con inóculo, película, vacío; (C-IP): Con inóculo, película, sin vacío; (C-IV): Con inóculo, vacío; (C-1) Control-1: Con inóculo.

7.5.2 Determinación de textura en carne asada

No se encontró efecto significativo entre los tratamientos; es decir la aplicación de la película no influyó en la dureza de la carne; este parámetro disminuyó significativamente durante el almacenamiento, un comportamiento similar fue el obtenido por Ruiz de Huidobro et al. (2003) quienes observaron que la dureza de

carne de novilla y de toro disminuyó a medida que transcurría el tiempo, afirmando que el debilitamiento progresivo de la carne se debe al envejecimiento, el cual contribuye a disminuir la dureza de la carne; Jeleníková et al., Pipek & Staruch, (2008) también menciona que la disminución de la dureza es debido a la actividad proteolítica.

Tabla 18. Dureza (N) de la carne asada durante los 14 días de almacenamiento

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14
C-IPV	386.51±0.01 ^{aA}	386.35±0.01 ^{bA}	386.34±0.01 ^{cA}
C-IP	386.51±0.01 ^{aA}	386.35±0.01 ^{bA}	386.34±0.01 ^{cA}
C-IV	386.51±0.01 ^{aA}	386.35±0.01 ^{bA}	386.30±0.01 ^{cA}
C-1	386.51±0.01 ^{aA}	386.35±0.05 ^{bA}	386.34±0.01 ^{bA}

Valores promedio de 3 repeticiones ± Desviación estándar. Los valores con diferente letra minúscula indican diferencia significativa en los días de almacenamiento; letra mayúscula indica diferencia entre los tratamientos. Tratamiento (C-IPV): Con inóculo, película, vacío; (C-IP): Con inóculo, película, sin vacío; (C-IV): Con inóculo, vacío; (C-1) Control-1: Con inóculo.

7.6 Prueba de aceptación dirigida al consumidor

Los resultados de la prueba de aceptación se muestran en la Figura 5 donde se observa que la carne que fue conservada con la película de quitosano y aceite esencial fue aceptada por el 70% de los consumidores sin embargo realizaron comentarios como que se sentía mucho el sabor a orégano, que estaba muy condimentada y que dejaba un resabio amargo. Por este motivo se sugiere que la aplicación de la película podría realizarse solo sobre un lado del medallón de Top Sirloin.

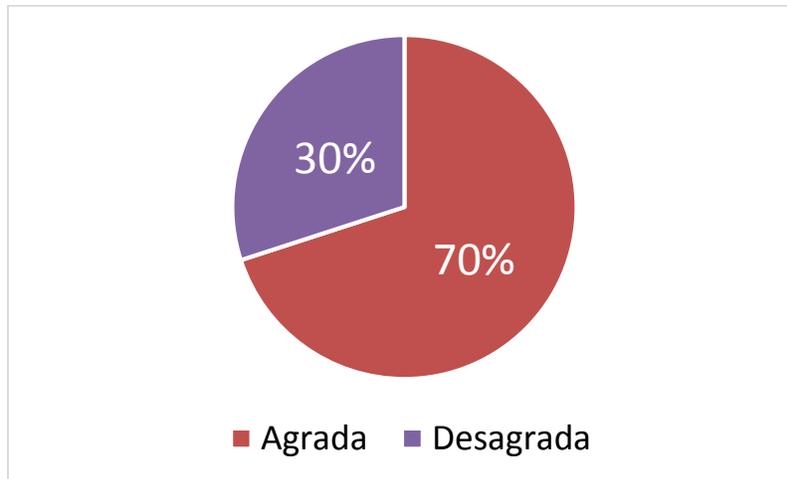


Figura 5. Aceptación de Top Sirloin de res envasado con la película de quitosano y aceite esencial de orégano.

CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

- La carne utilizada en esta investigación se encontró con valores de pH, CRA, L*, a*, b* dentro de los valores normales reportados en la bibliografía; sin embargo, la cuenta microbiana de *Listeria monocytogenes* fue superior a lo permitido por la NOM-034-SSA1-1993
- La aplicación de la película de quitosano con aceite esencial de orégano al 3% en Top Sirloin de res cruda disminuyó 3.28 log UFC/g de *Listeria innocua* en carne cruda comparada con el valor inicial de 7.98 log UFC/g. Favoreciendo un porcentaje de reducción del 41.3%.
- La utilización de vacío al aplicar la película de Qo con AEO no mostró efecto significativo en la reducción de *Listeria innocua*, ni en el pH de la misma.
- La aplicación de la película favoreció la disminución del contenido de humedad (5-6%) y la capacidad de retención de agua (2-3.9 mL/100 g), favoreciendo la retención del color independientemente de la utilización de vacío.
- En Top Sirloin asada la utilización de la película de Qo con AEO al 3% inhibió totalmente el crecimiento de *Listeria innocua* durante 14 días de almacenamiento a temperatura de refrigeración.
- La carne conservada con la película durante 7 días y asada fue evaluada como aceptada por los consumidores y observada por su sabor.

RECOMENDACIONES

9. RECOMENDACIONES

- Enjuagar la carne con agua estéril antes de ser envasada para disminuir su carga microbiana inicial.
- Utilizar esta película para la conservación de productos cárnicos marinados o carnes que posteriormente van a ser procesadas y que generalmente son muy condimentados.
- Utilizar la película sin envolver la carne; es decir su aplicación sobre un solo lado de la carne.

BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abril, M., Campo, M. M., Onenc, A., Sañudo, C., Albertí, P., & Negueruela, A. I. (2001). Beef colour evolution as a function of ultimate pH. *Meat Science*, 58(1), 69–78.
- Amadio, C., Miralles, S., Medina, R., Dediol, C., & Zimmermann, M. (2011). Aceite esencial de orégano: un potencial aditivo alimentario. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias UNCUYO*, 43(1), 237–245.
- AOAC Official Method of Analysis (1995), Association of Analytical Chemists Official Method 920.87. Protein (total) in flour. In: *Offic Meth Anal AOAC Intern*, 16th ed. Cunniff P (ed).
- AOAC Official Method of Analysis (2005), Ash of Flour (Direct Method), Method 923.03. In: *Official Methods of Analysis*, 18th Edition, AOAC International Publisher, Gaithersburg.
- AOAC Official Method of Analysis (2005), Official Method 920.39, Fat (crude) or ether extract in animal feed. 18th Ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
- AOAC Official Method of Analysis (2005), Official Methods 925.10 (32.1.03). Solids (total) and Moisture in Flour – Air Oven Methods (First action 1925. Final Action).
- Arenas de Moreno, L., Vidal, A., Huerta-Sánchez, D., Navas, Y., Uzcátegui-Bracho, S., & Huerta-Leidenz, N. (2000). Análisis comparativo proximal y de minerales entre carnes de iguana, pollo y res. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 50(4), 409–415.

- Atarés, L., & Chiralt, A. (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 51–62.
- Avila-sosa, R., Palou, E., Teresa, M., Munguía, J., Nevárez-moorillón, G. V., Rhode, A., ... López-malo, A. (2012). International Journal of Food Microbiology Antifungal activity by vapor contact of essential oils added to amaranth , chitosan , or starch edible fi lms. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1–2), 66–72.
- Aymerich, T., Picouet, P. A., & Monfort, J. M. (2008). Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78(1–2), 114–129.
- Bajpai, V. K., Baek, K. H., & Kang, S. C. (2012). Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, 45(2), 722–734.
- Bento, R. A., Stamford, T. L. M., Stamford, T. C. M., de Andrade, S. A. C., & de Souza, E. L. (2011). Sensory evaluation and inhibition of *Listeria monocytogenes* in bovine pâté added of chitosan from *Mucor rouxii*. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2), 588–591.
- Beverly, R. L., Janes, M. E., Prinyawiwatkul, W., & No, H. K. (2008). Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 25(3), 534–537.
- Braña Varela, D., Ramírez Rodríguez, E., Rubio Lozano, M. de la S., Sánchez Escalante, A., Torrescano Urrutia, G., Arenas de Moreno, M. L., ... Ríos Rincón, F. G. (2011). *Manual de Análisis de Calidad en Muestras de Carne* (1º). México.

- Braña Varela, D., Vélez Izquierdo, A., Espinosa García, J. A., Moctezuma López, G., Pérez Díaz, M. M., Jolalpa Barrera, J. L., ... Esparza Carrillo, A. L. (2012). *Calidad en puntos de venta de Carne*.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.
- Burt, S. 1. (2012). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 22(3), 201–206.
- Chan, J. T. Y., Omana, D. A., & Betti, M. (2011). Effect of ultimate pH and freezing on the biochemical properties of proteins in turkey breast meat. *Food Chemistry*, 127(1), 109–117.
- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114(4), 1173–1182.
- Emiroğlu, Z. K., Yemiş, G. P., Coşkun, B. K., & Candoğan, K. (2010). Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Science*, 86(2), 283–288.
- García-García, R. M., Palou-García, E., & López-Malo, A. (2008). Evaluación de mezclas binarias y ternarias de carvacrol, timol y eugenol para la inhibición de *Listeria innocua*. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 2(2), 87–101.

- Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2010). Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27(7), 889–896.
- Gómez, D., Azón, E., Marco, N., Carramiñana, J. J., Rota, C., Ariño, A., & Yangüela, J. (2014). Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat products and meat-processing environment. *Food Microbiology*, 42, 61–65.
- González Requena, B. (2012). *Revisión sobre tecnologías emergentes de conservación de la carne y productos cárnicos*. E.T.S.I.A. Campus de Palencia.
- Henchion, M. M., McCarthy, M., & Resconi, V. C. (2017). Beef quality attributes: A systematic review of consumer perspectives. *Meat Science*, 128, 1–7.
- Hocquette, J. F., Botreau, R., Picard, B., Jacquet, A., Pethick, D. W., & Scollan, N. D. (2012). Opportunities for predicting and manipulating beef quality. *Meat Science*, 92(3), 197–209.
- Hulankova, R., Borilova, G., & Steinhauserova, I. (2013). Combined antimicrobial effect of oregano essential oil and caprylic acid in minced beef. *Meat Science*, 95(2), 190–194.
- Jeleníková, J., Pipek, P., & Staruch, L. (2008). The influence of ante-mortem treatment on relationship between pH and tenderness of beef. *Meat Science*, 80(3), 870–874.

- Jiang, Z., Neetoo, H., & Chen, H. (2011). Control of *Listeria Monocytogenes* on Cold-Smoked Salmon Using Chitosan-Based Antimicrobial Coatings and Films. *Journal of Food Science*, 76(1), 22–26.
- Juneja, V. K., Thippareddi, H., Bari, L., Inatsu, Y., Kawamoto, S., & Friedman, M. (2006). Chitosan protects cooked ground beef and turkey against *Clostridium perfringens* spores during chilling. *Journal of Food Science*, 71(6), 236–240.
- Kanatt, S. R., Chander, R., & Sharma, A. (2008). Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chemistry*, 107(2), 845–852.
- Kerry, J., Kerry, J., & Ledward, D. (2002). *Meat Processing: Improving quality*. *Meat Processing*. USA: Woodhead Publishing Limited.
- Khanjari, A., Karabagias, I. K., & Kontominas, M. G. (2013). Combined effect of N,O-carboxymethyl chitosan and oregano essential oil to extend shelf life and control *Listeria monocytogenes* in raw chicken meat fillets. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1), 94–99.
- Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 51–63.
- Krzywdzińska-Bartkowiak, M., Rezler, R., & Gajewska-Szczerbal, H. (2016). The influence of meat muscle structural properties on mechanical and texture parameters of canned ham. *Journal of Food Engineering*, 181, 1–9.
- Marcos, B., & Mullen, A. M. (2014). High pressure induced changes in beef muscle proteome: Correlation with quality parameters. *Meat Science*, 97(1), 11–20.

- Martín, B., Perich, A., Gómez, D., Yangüela, J., Rodríguez, A., Garriga, M., & Aymerich, T. (2014). Diversity and distribution of *Listeria monocytogenes* in meat processing plants. *Food Microbiology*, *44*, 119–127.
- Martucci, J. F., Gende, L. B., Neira, L. M., & Ruseckaite, R. A. (2015). Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. *Industrial Crops and Products*, *71*, 205–213.
- Merlín Sosa, M. (2015). Formulación y caracterización de una película activa a base de quitosano y aceite esencial. Tesis de Maestría. Departamento de Química y bioquímica. Instituto Tecnológico de Tuxtepec.
- Montowska, M., & Pospiech, E. (2013). Species-specific expression of various proteins in meat tissue: Proteomic analysis of raw and cooked meat and meat products made from beef, pork and selected poultry species. *Food Chemistry*, *136*(3–4), 1461–1469.
- Morales-Pérez, J. M. (2005). Preparación de una película activa de estructura bicapa. Tesis de Maestría. Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos. Instituto Tecnológico de Veracruz.
- Morales Pérez, J.M., Palacios Gordillo, L. G., Tejero Andrade, J.M., y Mendoza García, P.G. (2006). Desarrollo de una Película Activa de Estructura Bicapa. Alfa Editores Técnicos. 17-20.
- Noriega, E., Shama, G., Laca, A., Díaz, M., & Kong, M. G. (2011). Cold atmospheric gas plasma disinfection of chicken meat and chicken skin contaminated with *Listeria innocua*. *Food Microbiology*, *28*(7), 1293–1300.
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-114-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-115-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-143-SSA1-1995, Bienes y servicios. Metodo de prueba microbiologico para alimentos. Determinacion de *listeria monocytogenes*.

Paparella, A., Mazzarrino, G., Chaves-López, C., Rossi, C., Sacchetti, G., Guerrieri, O., & Serio, A. (2016). Chitosan boosts the antimicrobial activity of *Origanum vulgare* essential oil in modified atmosphere packaged pork. *Food Microbiology*, 59, 23–31.

Park, S. II, Marsh, K. S., & Dawson, P. (2010). Application of chitosan-incorporated LDPE film to sliced fresh red meats for shelf life extension. *Meat Science*, 85(3), 493–499.

Pérez Chabela, M. de L., Guerrero Legarreta, I., & Ponce Alquicira, E. (2008). Detección de microorganismos patógenos e indicadores en carne de bovino que se expende en supermercados de la Ciudad de México. *NACAMEH*, 2(2), 188–194.

Quintavalla, S., & Vicini, L. (2002). Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, 62(3), 373–380.

Quintero-Salazar, B., & Ponce-Alquicira, E. (2007). Edible Packaging for Poultry and Poultry Products. In *Handbook of Food Manufacturing* (pp. 797–815).

Realini, C. E., & Marcos, B. (2014). Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat Science*, 98(3), 404–419.

- Restuccia, D., Spizzirri, U. G., Parisi, O. I., Cirillo, G., Curcio, M., Iemma, F., ... Picci, N. (2010). New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. *Food Control*, *21*(11), 1425–1435.
- Rodríguez-Núñez, J. R., López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Ramírez-Wong, B., Torres-Chavez, P., & Cortez-Rocha, M. O. (2012). Antimicrobial activity of chitosan-based films against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Science and Technology*, *47*(10), 2127–2133.
- Royo, M., Fernández-Pan, I., & Maté, J. I. (2010). Antimicrobial effectiveness of oregano and sage essential oils incorporated into whey protein films or cellulose-based filter paper. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*(9), 1513–1519.
- Rubio Lozano, M. de la S., Braña Varela, D., Méndez Medina, R. D., & Delgado Suárez, E. (2013). *Carne Mexicana* (1º). México.
- Ruiz de Huidobro, F., Miguel, E., Onega, E., & Blázquez, B. (2003). Changes in meat quality characteristics of bovine meat during the first 6 days post mortem. *Meat Science*, *65*(4), 1439–1446.
- Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeon, Y. J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology*, *10*(2), 37–51.
- Shekarforoush, S. S., Basiri, S., Ebrahimnejad, H., & Hosseinzadeh, S. (2015). Effect of chitosan on spoilage bacteria, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* in cured chicken meat. *International Journal of Biological Macromolecules*, *76*, 303–309.

- Shen, Z., & Kamdem, D. P. (2015). Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 289–96.
- Siripatrawan, U., & Noipha, S. (2012). Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 102–108.
- Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P., & Botsoglou, N. (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage. *Meat Science*, 80(2), 159–166.
- Suman, S. P., Mancini, R. A., Joseph, P., Ramanathan, R., Konda, M. K. R., Dady, G., & Yin, S. (2011). Chitosan inhibits premature browning in ground beef. *Meat Science*, 88(3), 512–516.
- Suppakul, P., Miltz, J., Sonneveld, K., & Bigger, S. W. (2003). Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Concise Reviews in Food Science. *Journal of Food Science*, 68(2), 408–420.
- Upadhyay, A., Upadhyaya, I., Karumathil, D. P., Yin, H. bai, Nair, M. S., Bhattaram, V., ... Venkitanarayanan, K. (2015). Control of *Listeria monocytogenes* on skinless frankfurters by coating with phytochemicals. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 37–42.
- Van Den Broek, L. A. M., Knoop, R. J. I., Kappen, F. H. J., & Boeriu, C. G. (2015). Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydrate Polymers*, 116, 237–242.

- Vilela, J., Martins, D., Monteiro-Silva, F., González-Aguilar, G., de Almeida, J. M. M., & Saraiva, C. (2016). Antimicrobial effect of essential oils of *Laurus nobilis* L. and *Rosmarinus officinallis* L. on shelf-life of minced “Maronesa” beef stored under different packaging conditions. *Food Packaging and Shelf Life*, 8, 71–80.
- Vodnar, D. C., Pop, O. L., Dulf, F. V., & Socaciu, C. (2015). Antimicrobial efficiency of edible films in food industry. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 43(2), 302–312.
- Ye, M., Neetoo, H., & Chen, H. (2008). Effectiveness of chitosan-coated plastic films incorporating antimicrobials in inhibition of *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, 127(3), 235–240.
- Ye, M., Neetoo, H., & Haiqiang Chen. (2008). Control of *Listeria monocytogenes* on ham steaks by antimicrobials incorporated into chitosan-coated plastic films. *Food Microbiology*, 25, 260–268.
- Young, O. A., Zhang, S. X., Farouk, M. M., & Podmore, C. (2005). Effects of pH adjustment with phosphates on attributes and functionalities of normal and high pH beef. *Meat Science*, 70(1), 133–139.
- Zivanovic, S., Chi, S., & Draughon, A. (2005). Antimicrobial Activity of Chitosan Films Enriched with Essential Oils. *Science*, 70(1), 45–51.

ANEXO

11. ANEXO 1

Formato para la prueba de la prueba de aceptación dirigida al consumidor.

Evaluación sensorial

Sexo: F () M ()

Edad: 15-25 _____ 26-35 _____ más de 36 _____

Instrucciones: Por favor pruebe las dos muestras de carne y coloque una X en la línea que corresponda según su agrado.

Descripción	Muestra	
	137	369
Me gusta muchísimo		
Me gusta mucho		
Me gusta		
Me gusta un poco		
No me gusta ni me disgusta		
Me disgusta un poco		
Me disgusta		
Me disgusta mucho		
Me disgusta muchísimo		

Comentarios: _____

¡Gracias por su colaboración!