

## EFFECTO DE LA INYECCIÓN DE $\text{CaCl}_2$ SOBRE LA SUAVIDAD DEL CORTE DE SOLOMO (OUTSIDE)<sup>1</sup>

*Alejandro Chacón-Villalobos<sup>2</sup>*

### RESUMEN

**Efecto de la inyección de  $\text{CaCl}_2$  sobre la suavidad del corte de solomo (Outside).** Con el objetivo de determinar el efecto del  $\text{CaCl}_2$  sobre la suavidad del corte de solomo se utilizaron 100 solomos (outside) con peso medio de 2,9 kg, en Alajuela y San José en el año 2000. Ochenta fueron inyectados mecánicamente con  $\text{CaCl}_2$  (3%) en una cantidad equivalente al 5% del peso de cada pieza, empacados al vacío, madurados a 7 °C durante siete días, y divididos aleatoriamente en cuatro subgrupos de 20 unidades. Un subgrupo se congeló a -25 °C durante un mes. El segundo y tercero se cocinaron por inmersión en agua caliente hasta alcanzar una temperatura interna estimada de 70 °C. Al terminar la cocción el tercer subgrupo se congeló como se describió antes. El cuarto subgrupo solo se maduró y veinte piezas frescas constituyeron el grupo control. Se determinó la fuerza de corte para las 100 piezas empleando el método de la American Meat Science Association. El pH de las piezas frescas y de aquellas sometidas a los procesos de maduración fue determinado. Se estimó la calidad microbiológica y las pérdidas de peso de cada tratamiento. El solomo fresco presentó un pH bajo (5,4) que no es significativamente incrementado por la maduración con  $\text{CaCl}_2$  ( $p > 0,05$ ). Los tratamientos de cocción presentaron mayores pérdidas de peso y menores mejoras en la suavidad. Todos los tratamientos aumentaron la suavidad inicial del solomo (7,45 kg/cm<sup>2</sup>) y presentaron recuentos microbianos aceptables. La inyección seguida de empacado al vacío y maduración generó mejores resultados en la suavidad final (3,81 kg/cm<sup>2</sup>).

**Palabras clave:** Procesamiento, carne, suavidad, cloruro de calcio, calpain.

### ABSTRACT

**Effect of  $\text{CaCl}_2$  injection over "Solomo" (Outside) meat cuts tenderness.** This study took place in Alajuela and San José during year 2000. With the objective to establish  $\text{CaCl}_2$  injection effects over tenderness a total of 100 outside cuts (medium weight of 2.9 kg) were evaluated. Eighty cuts were injected with a  $\text{CaCl}_2$  solution (3%) in a quantity equal to 5% of every piece weight, vacuum-packed and then ripened (seven days / 7 °C). After ripening, four subgroups of 20 units were established randomly. The first was frozen at -25 °C during a month. The second and the third were cooked by immersion in hot water until the internal temperature reached 70 °C. At the end of the cooking process, the third group was frozen as described. The fourth group only underwent ripening (seven days/ 7 °C). The remaining twenty fresh cuts were used as control. The "cut force" of the 100 pieces was evaluated by the methods of the American Meat Science Association. Microbiological quality, weight losses of every treatment, and the pH values for both fresh and ripened cuts were studied. Outside presented low pH values both fresh and ripened (5.4), values which did not show statistical differences among each other ( $p > 0.05$ ). Microbiological evaluation proved all treatments to be sanitarly well executed. Treatments involving cooking showed the highest weight losses and the poorest enhancement of tenderness. All treatments improved outside original tenderness (7.45 kg/cm<sup>2</sup>). The best results were obtained while ripening after  $\text{CaCl}_2$  injection and vacuum packaging (3.81 kg/cm<sup>2</sup>).

**Key words:** Processing, meat, tenderness, calcium chloride, calpain.



<sup>1</sup> Recibido: 9 de diciembre, 2005. Aceptado: 5 de marzo, 2006.

<sup>2</sup> Estación Experimental Alfredo Volio Mata. Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica. Correo electrónico: [achaconv@cariari.ucr.ac.cr](mailto:achaconv@cariari.ucr.ac.cr)

## INTRODUCCIÓN

La suavidad es reconocida por una gran cantidad de investigadores como el parámetro más importante con que el consumidor juzga la calidad de la carne (Joseph 1971; Stouffer 1975; Polidori *et al.* 1996); factor que resulta entonces fundamental en su aceptación (Menzies 1997). Este parámetro es siempre el más variable y menos evidente (Woodhouse 1998), siendo en la actualidad la mayor preocupación en la industria cárnica (Koochmaraie *et al.* 1996).

El proceso por medio del cual la carne desarrolla su suavidad final es complejo y multifactorial, dependiendo de factores ante y *postmortem* de la más diversa índole (Prates 2002; Veiseth y Koochmaraie 2005). El manejo y alimentación del animal antes de la matanza, la longitud final del sarcómero dependiente del grado final de contracción muscular y de la cantidad de proteína miofibrilar (dureza primaria), el contenido de tejido conectivo (dureza secundaria), los procesos bioquímicos durante el almacenamiento posterior a la matanza, las condiciones de este almacenamiento y el procesamiento posterior, pueden citarse dentro de esos factores (Joseph 1971; Bailey 1979; Polidori *et al.*, 1996; Koochmaraie *et al.* 2002; Pérez *et al.* 2005).

Algunos procedimientos industriales simples o combinados como el empacado al vacío, la cocción y congelación pueden tener un efecto importante en la suavidad (Maltin *et al.* 2003; Chacón 2004). El empacado al vacío ha demostrado mejorar no solo la aceptación, la inocuidad y vida útil, si no también la suavidad de la carne (Golovkin *et al.* 1984; Costell 1992; Heinemann y Pinto 2003; Huerta-Leidenz *et al.* 2004; Vázquez *et al.* 2004). La cocción favorecería más la suavidad de la pieza por desnaturalización y gelatinización del tejido conectivo (Chacón 2004). El proceso de congelación, además de su efecto preservante demuestra tener un efecto mecánico disruptivo sobre la integridad de la carne, lo cual puede repercutir en una mejora de la suavidad (Whipple *et al.* 1992; Molina *et al.* 2004).

Muchos han sido los métodos surgidos para el mejoramiento de la suavidad al causar estos un alargamiento del sarcómero, una ruptura de la integridad de las fibras musculares o del tejido conectivo, o bien

un cambio fisicoquímico durante el almacenamiento o procesamiento (Bruce *et al.* 1990; Savell 1998). Pueden citarse el estiramiento mecánico (Mueller 1990), el uso de extractos enzimáticos de frutas (Quaglia *et al.* 1992) o de origen bacteriano (Takagi *et al.* 1992), la estimulación eléctrica (Bostan *et al.* 2001; Hwang *et al.* 2003), las altas presiones (Schilling *et al.* 2002) y la inclusión en la dieta del animal de vitamina D (Montgomery *et al.* 2000) y de geles de sales de calcio (Duckett *et al.* 2001).

Datos obtenidos en investigaciones recientes, sugieren que la proteólisis *postmortem* de las proteínas miofibrilares durante la maduración en almacenamiento de la carne es el factor clave a considerar si se busca un mejoramiento de la suavidad (Buts 1987; Koochmaraie 1994; Doumit *et al.* 1999; Veiseth y Koochmaraie 2005). Amplia evidencia experimental indica que la ruptura de las proteínas claves responsables de la estructura muscular observadas en ese proceso madurativo está asociada al sistema enzimático de las denominadas *proteasas neutrales dependientes del calcio* o *Calpaínas* (Taylor *et al.* 1995; Pringle *et al.* 1996; Geesink y Koochmaraie 1998). Estudios demuestran que más del 90% del incremento en la suavidad que ocurre durante el almacenamiento puede ser atribuido a la acción de este sistema enzimático (Alayan 1997).

Las calpaínas constituyen una amplia familia de proteinasas intracelulares citosólicas dependientes del Ca<sup>2+</sup>, cisteína específicas y manifiestas en muchas isoformas, las cuales se encuentran omnipresentes en los tejidos musculares de los vertebrados (Goll 1997; Goll *et al.* 1999). Estas enzimas se vinculan especulativamente con funciones biológicas relacionadas con el Ca<sup>2+</sup> tales como la mitosis y la diferenciación celular, transmisión de señales, regulación enzimática y procesos propios de la membrana plasmática (Goll *et al.* 1992; Goll 1997; Suzuki *et al.* 1998). Muestran una actividad regulada a valores de pH fisiológicos para un óptimo de entre 7,2 y 8,2 (Goll *et al.* 1992; Sorimachi *et al.* 1997; Suzuki *et al.* 1998; Ono *et al.* 1998; Gilchrist 1999), aunque a pH menores como el de la carne madura la actividad es aún suficiente para provocar una mejora en la suavidad (Wheeler 2000<sup>3</sup>).

<sup>3</sup> WHEELER, T. 2000. El pH y su relación con la actividad de las calpaínas. U.S. Meat Animal Research Center, Estados Unidos de América. Comunicación Personal. Correo electrónico.

Las calpaínas se conocen con nombres derivados a partir de sus requerimientos de calcio:  $\mu$ -calpaína,  $\mu/m$ -calpaína (presente solo en aves), m-calpaína y 3/p94 calpaína, además del inhibidor común para todas ellas denominado calpastatina (Goll *et al.* 1992; Sorimachi *et al.* 1997; Goll *et al.* 1999; Raynaud *et al.* 2005). Este inhibidor se liga a los dominios IV y IV' de las subunidades cortas y largas de las calpaínas evitando así la posibilidad de que el Ca<sup>2+</sup> pueda interactuar con estas regiones, reduciendo tanto la velocidad como la magnitud del efecto proteolítico (Sorimachi *et al.* 1997; Geesink y Koohmaraie 1999). Tanto las calpaínas como la calpastatina se localizan intracelularmente en forma exclusiva (Goll *et al.* 1999), mayoritariamente en la línea Z de los sarcómeros, y en menor cantidad en la banda I (Dayton *et al.* 1981; Kumamoto *et al.* 1992; Spencer *et al.* 1992; Goll *et al.* 1999).

La  $\mu$ -calpaína requiere de concentraciones micromolares de Ca<sup>2+</sup> (3-50  $\mu$ M) para alcanzar la mitad de su actividad máxima mientras que la m-calpaína necesita de concentraciones milimolares (200-1000  $\mu$ M). La  $\mu/m$ -calpaína es activa en el rango de 3-1000  $\mu$ M y la calpastatina actúa como regulador o inhibidor de las tres formas antes mencionadas para todas las concentraciones de Ca<sup>2+</sup> (Goll *et al.* 1992; Baki *et al.* 1996; Goll 1997; Ono *et al.* 1998; Suzuki *et al.* 1998; Kinbara *et al.* 1998; Sorimachi *et al.* 1997; Goll *et al.* 1999).

A pesar de que este sistema de enzimas ha sido bien caracterizado, la relación existente entre su función y su estructura, sus mecanismos de regulación (Goll *et al.* 1992; Elce *et al.* 1997; Suzuki *et al.* 1998; Hopkins y Taylor 2004), su estructura tridimensional y su papel fisiológico (Goll *et al.* 1992; Baki *et al.* 1997; Goll 1997; Sorimachi *et al.* 1997; Elce *et al.* 1997; Ono *et al.* 1998), así como el por qué las calpaínas pueden ser activas *in vivo* si las concentraciones de Ca<sup>2+</sup> requeridas *in vitro* son mucho más elevadas que aquellas que se puede esperar en una célula (Goll *et al.* 1992; Goll, 1997; Suzuki *et al.* 1998; Sorimachi *et al.* 1997), son aspectos no del todo comprendidos hoy día. El papel mismo de la  $\mu$ -calpaína y la 3/p94 calpaína en el proceso de mejoramiento *postmortem* de la suavidad es todavía oscuro (Hopkins y Taylor 2004). Algunos autores afirman que las mismas no tienen participación alguna (Geesink *et al.* 2005; Kanawa *et al.* 2002), mientras otros si les atribuyen un papel en este sentido (Huang *et al.* 2004).

Muchos estudios han evidenciado el papel de las calpaínas en la degradación de la banda Z del sarcómero, rica en titina y nebulina, y de otras proteínas que sirven de unión entre las miofibrillas y la membrana plasmática, aspectos que están directamente relacionados con el mejoramiento *postmortem* de la suavidad (Goll *et al.* 1992; Taylor *et al.* 1995; Savell, 1998; Goll *et al.* 1999). Las calpaínas degradan paulatinamente, y de manera casi inmediata después de la matanza la tropomiosina (Viseth y Koohmaraie 2005), y a las troponinas T e I (Huang *et al.* 2004). Estos sustratos contribuyen con la estabilidad de los filamentos gruesos y en el mantenimiento de los monómeros de actina en la forma filamentosa. Las calpaínas degradan además la nebulina, la desmina (Baron *et al.* 2004), y la titina, las cuales mantienen la estabilidad del enrejado que forman los filamentos gruesos y delgados; eliminan varias proteínas conocidas como C y M que mantienen las moléculas de miosina ensambladas en los filamentos gruesos; y no degradan la actina y la miosina (Goll *et al.* 1991; Goll *et al.* 1999; Hopkins y Taylor 2004; Lametsch *et al.* 2004). Todo lo anterior provoca el mejoramiento madurativo de la carne.

Autores como Rowe *et al.* (2004) señalan que las calpaínas son susceptibles a ser inactivadas por la oxidación, aspecto que podría explicar por qué el empacado al vacío podría influir positivamente sobre su acción proteolítica.

Basándose en el potencial de las calpaínas como agentes proteolíticos que mellan estructuralmente a los sarcómeros, y habiéndose establecido que el grado de contracción y la integridad de los mismos es el factor determinante en la dureza final de la carne; la literatura documenta muchas experiencias que demuestran un incremento apreciable en la actividad de las calpaínas cuando éstas se exponen al efecto de CaCl<sub>2</sub> (Koohmaraie 1992). De las diferentes formas descritas, es la inyección mecánica de una disolución salina de CaCl<sub>2</sub> la que ofrece los mejores resultados gracias a la distribución más uniforme (Wheeler 2000<sup>3</sup>).

La inyección mecánica de cloruro de calcio en piezas de carne a las 24 horas *postmortem* (una vez dada la resolución del rigor), puede ser empleada como un método de bajo costo para estimular la acción de las calpaínas (Chacón 2004). La misma debe ser seguida de un empacado al vacío y subsiguiente maduración a

7 °C durante un período de siete días (Wheeler *et al.* 1992; Wheeler *et al.* 1993), período en el cual se da la mayor actividad de las calpaínas (Boehm *et al.* 1998). El porcentaje de inyección recomendado de 5% de la masa de la pieza con una disolución al 3% (m/v) en  $\text{CaCl}_2$  es lo suficientemente reducido para que no se registren sabores y olores indeseables en el producto (Wheeler *et al.* 1993; Lourdes *et al.* 1998). Las calpaínas expresan una mejor actividad a medida que decrece la fuerza iónica el medio (Maddock *et al.* 2005), por lo cual un aumento en el porcentaje de inyección o la concentración de la misma podría tener un efecto contraproducente (Pérez *et al.* 2005).

En Costa Rica, el corte de carne conocido como solomo (outside) es tradicionalmente señalado como el de mayor dureza. Esta condición limita su valor económico y las posibilidades de procesamiento (Solís 1999<sup>4</sup>). En un estudio anterior Chacón (2005), caracterizó químicamente cortes de solomo de ganado cebuino con una edad aproximada de 3,5 años, y evaluó los efectos del empacado al vacío, la maduración por siete días a 7 °C, la cocción húmeda a 70 °C y el congelamiento a -25 °C por 30 días sobre la dureza final (estimada como  $\text{kg}/\text{cm}^2$  con un texturómetro). El solomo fresco mostró alta variabilidad en la fuerza de corte, estimada en 7,45  $\text{kg}/\text{cm}^2$ , así como una composición ligeramente alta en tejido conectivo (2,9 %). Presentó así mismo un pH bajo que no fue significativamente incrementado por la maduración ( $p > 0,05$ ). Todos los tratamientos generaron recuentos microbianos sanitariamente aceptables, y aumentaron significativamente ( $p < 0,05$ ) en algún grado la suavidad del solomo, a pesar de que en muchos casos dichos tratamientos no fueron significativamente diferentes entre sí ( $p > 0,05$ ). El tratamiento de maduración durante siete días a 7 °C fue el que generó mejores resultados generales (5,51  $\text{kg}/\text{cm}^2$ ). Procesos como los antes descritos podrían potenciarse con una adición de cloruro de calcio por medio de una inyección que estimule a las calpaínas.

Se presenta este estudio con el objetivo de evaluar el efecto individual y combinado de los procesos de maduración, cocción y congelamiento sobre el rendi-

miento, la carga microbiana y la suavidad final del corte de solomo bovino cuando éstos se ejecutan con posterioridad a un proceso industrial de inyección de una disolución de cloruro de calcio. El solomo fue escogido con fines experimentales dada la baja demanda comercial derivada de su alta dureza y por el interés existente en mejorar su aceptación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

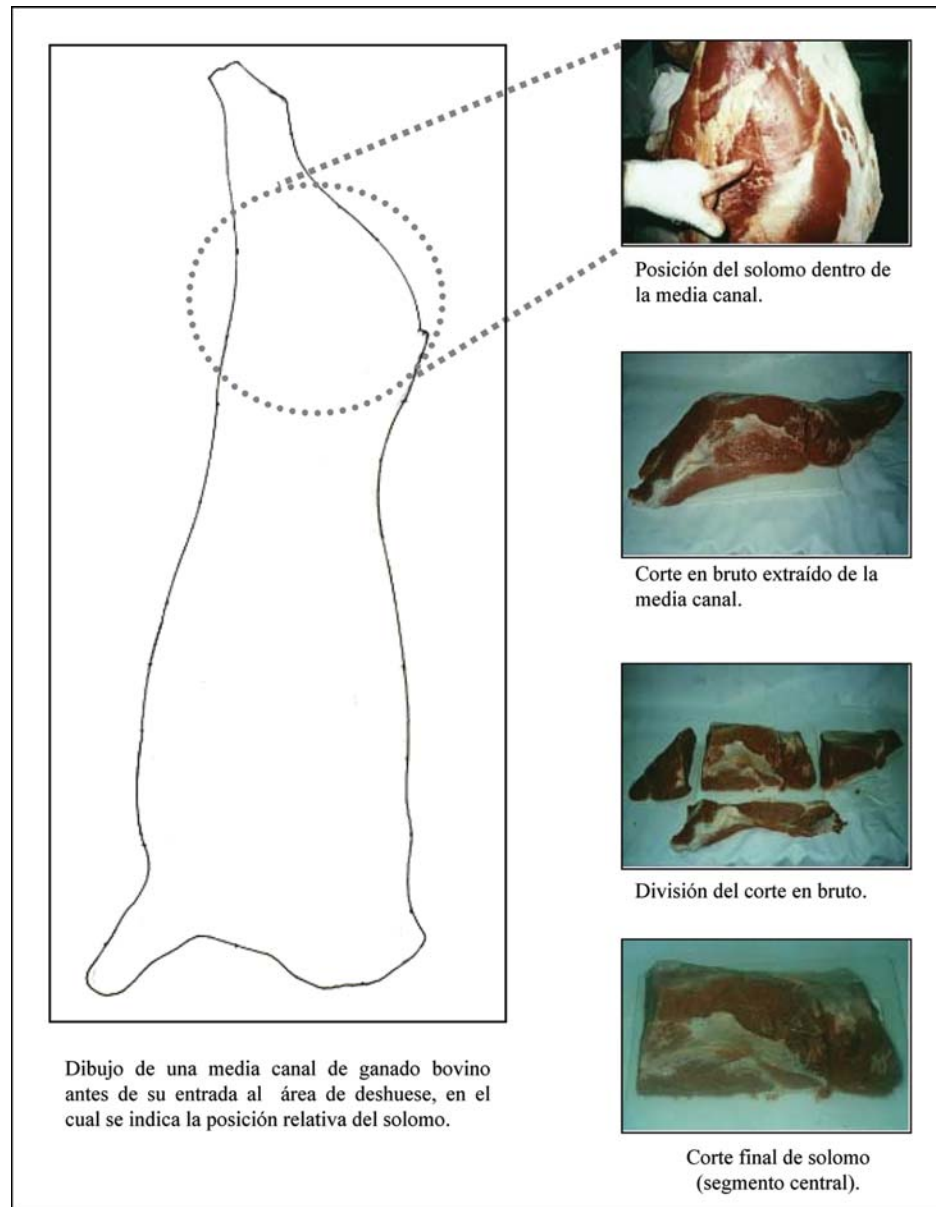
### Localización y materia prima

La investigación se efectuó durante el primer semestre del año 2000.

El proceso de inyección mecánica de las piezas se efectuó en la planta de producción de Embutidos Zar ubicada en la provincia de Alajuela, Costa Rica. Los procedimientos de maduración, empacado, cocción y congelamiento así como los análisis de pH se realizaron en el Laboratorio de Control de Calidad y en la planta de producción de Coopemontecillos RL, ubicado en la provincia de Alajuela. Los recuentos microbiológicos se ejecutaron en las instalaciones de Laboratorios Microtec, ubicados en la provincia de San José, Costa Rica. La determinación de la fuerza de corte tomó lugar en el Laboratorio de Análisis Sensorial del Centro Nacional en Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA) de la Universidad de Costa Rica, ubicado en San Pedro de Montes de Oca.

Se utilizaron cabezas de ganado cebuino (machos), con una edad aproximada de 3,5 años. Esta raza representa la mayor parte del ganado sacrificado en Coopemontecillos R.L. (Solís 1999<sup>4</sup>). Las muestras fueron 100 piezas de solomo recolectadas por medio de un muestreo simple aleatorio 24 horas después del sacrificio (recién finalizado el período de *rigor mortis* y antes que los cambios degradativos asociados a la maduración iniciaran). Pasado este tiempo, los canales alcanzan una temperatura de 7 °C en las cámaras de refrigerado y puede ejecutarse un deshuesado sanitariamente adecuado. Las piezas se obtienen de la media canal tal y como muestra la Figura 1. De cada cabeza de ganado se obtuvo una pieza de solomo. Pruebas preliminares definieron el peso medio de los solomos en  $2,9 \pm 0,1$  kg (Chacón 2005).

<sup>4</sup> SOLÍS, E. 1999. Suavizamiento por inyección de cloruro de calcio del solomo y discusión de métodos de análisis implementados en el laboratorio de control de calidad de Coopemontecillos RL. Alajuela, Costa Rica. Comunicación Personal. Entrevista.



**Figura 1.** Esquema ilustrativo de la obtención de un corte de solomo a partir de una media canal sometida al deshuesado. San José, Costa Rica. 2005.

Las piezas se encuentran ubicadas en la zona de los cuartos traseros del animal, y durante el deshuese se obtiene preliminarmente en la forma de un corte en bruto, que posteriormente es segmentado eliminándose la punta, que corresponde a otro corte llamado

“punta de solomo”, y la “cola” que no forma tampoco parte del solomo como tal. Igual suerte corre una pequeña sección lateral de poco valor. Al final se obtiene en todos los casos una pieza central muy uniforme con forma de paralelepípedo (Figura 1).

De las 100 piezas experimentales, 20 piezas frescas se reservaron como un grupo de control, mientras que 80 se destinaron a los tratamientos experimentales. Estos son los tamaños muestrales necesarios previamente caracterizados estadísticamente por Chacón (2005) en base a la variabilidad de la fuerza de corte del solomo.

### **Procedimiento de inyección, empaqueo y maduración**

Se tomaron 80 piezas de solomo fresco y se pesaron preliminarmente. Se procedió entonces a inyectar mecánicamente las piezas con una disolución de cloruro de calcio al 3%, cuyo volumen de inyección correspondió al 5% del peso de las piezas (Wheeler 1998<sup>5</sup>). Para este fin se empleó una máquina inyectora multiagujas Dorit INJECT-O-MAT 21. Cada pieza inyectada recibió un masaje exhaustivo y aséptico para una mejor distribución del fluido.

Finalizado el procedimiento de inyección, cada una de las piezas se empacó individualmente al vacío empleando una selladora Ultravac modelo RA0250-C42C-1011. Se empleó una bolsa para empaque y cocción CRYOVAC CN-510. Este material posee una estructura multicapas de muy alta resistencia y excelentes características de barrera, que reducen sustancialmente las pérdidas de humedad.

Una vez empacadas todas las piezas, se almacenaron en una cámara de refrigeración que mantuvo una temperatura de 7 °C durante un período de siete días. Se permitió dentro de los anaqueles una distancia entre piezas de 2,5 cm en la dimensión horizontal, y de 10 cm en la dimensión vertical con la finalidad de permitir una adecuada circulación del aire.

La maduración es común a todos los tratamientos no sólo por ser un proceso estándar en la industria de los cárnicos, si no por el interés en caracterizar la acción enzimática teóricamente esperada sobre la dureza. En términos generales, en la industria la con-

gelación y la cocción se aplican con posterioridad a la maduración. Además, la cocción como procedimiento puede destruir irreparablemente las enzimas involucradas en los cambios estructurales madurativos que originan mucha de la suavidad de la carne, y suele generar bastante pérdida de fluidos en carnes muy frescas. Es por ello que se consideró como lo más prudente estudiarla como un proceso posterior a la maduración.

### **Tratamientos aplicados al solomo**

Se efectuaron en total cuatro tratamientos, donde cada uno de ellos abarcó 20 piezas de solomo pesadas, inyectadas, empacadas, y maduras. Los tratamientos fueron: únicamente maduración; maduración y posterior congelación; maduración de los solomos y ulterior cocción, y finalmente, maduración, cocción y posterior congelación.

Finalizada la maduración, 20 piezas fueron seleccionadas y apartadas para conformar el tratamiento que solo involucraba este procedimiento.

Para el proceso de cocción se emplearon entonces cuarenta piezas de las ochenta totales que ya habían pasado por el procedimiento previo de maduración. Estas se cocinaron empacadas al vacío en el mismo empaque en que fueron maduras (CRYOVAC CN-510) hasta lograr una temperatura interna estimada en el centro de 70 °C. El proceso de cocción correspondió a un proceso escalonado en tres tiempos donde la pieza se cocinó en una marmita con agua a 65 °C durante la primera hora, a 70 °C durante la segunda hora y finalmente a 75 °C hasta obtener la temperatura interna estimada de 70 °C. La práctica industrial recomienda este tipo de procedimientos para aquellas piezas duras y con contenidos de colágeno importantes (Solís 1999<sup>4</sup>). Para estimar la temperatura interna final, dos piezas de solomo adicionales se incorporaron dentro de la marmita con el único propósito de insertar en ellas un termopar que midió su temperatura central a lo largo del proceso. Al finalizar la cocción estas piezas adicionales se descartaron.

Para el procedimiento de congelación se utilizaron 20 solomos que habían pasado antes por el proceso de maduración, y un segundo grupo de 20 solomos

<sup>5</sup> WHEELER, T. 1998. Suavizamiento de la carne por inyección de cloruro de calcio. U.S. Meat Animal Research Center, Estados Unidos de América. Comunicación Personal. Correo electrónico.

que habían sufrido maduración y posterior cocción. Los solomos, aún dentro del empaque original, se almacenaron en una cámara de congelación a una temperatura de -25 °C donde se mantuvieron durante un período de 30 días.

Finalizado el tiempo de almacenamiento, las piezas se trasladaron a una cámara de refrigeración a 7 °C donde se descongelaron durante las 18 horas anteriores a las determinaciones.

### **Determinaciones previas a la medición de la fuerza de corte**

Finalizados los tratamientos de maduración, cocción y congelado aplicados a los 80 solomos en sus diferentes combinaciones, se efectuaron las siguientes determinaciones:

#### *a) Determinación de la pérdida de peso durante los tratamientos*

Se seleccionaron al azar 15 piezas empacadas de las 20 resultantes de cada uno de los cuatro tratamientos, y se procedió a abrir su empaque, drenando cualquier líquido en su interior. Empleando los datos de masa inicial y los valores de masa final después de drenar, se calculó el porcentaje de pérdida en cada pieza para un intervalo de confianza de 99,9%, y se efectuó un análisis de varianza para determinar diferencias entre las medias de los tratamientos (Haber y Runyon 1973).

#### *b) Determinación del pH previo y posterior a la maduración*

La determinación de pH se efectuó para las piezas que recibieron inyección y maduración como único tratamiento, y para las del grupo control.

De las 15 piezas correspondientes al tratamiento de maduración, que fueron drenadas durante la determinación de las pérdidas de peso, se escogieron al azar 10 y se procedió a extraer una muestra representativa homogénea destinada a medir el pH. Se hizo lo mismo con 10 solomos frescos del grupo de control. Una vez obtenidos los datos de pH, se efectuó un análisis de varianza con los datos para determinar si existía una

diferencia significativa entre las piezas maduras y el grupo control. Se calculó el intervalo de confianza para un 99,9% de estas mediciones en el tratamiento y el grupo control (Haber y Runyon 1973). Se empleó en todas las determinaciones un pHmetro calibrado Corning modelo AA-200.

#### *c) Determinaciones microbiológicas*

En todos los tratamientos, se efectuaron análisis microbiológicos empleando como fuente de la muestra las cinco piezas por tratamiento que no fueron drenadas para determinar las pérdidas de peso. Además, se emplearon cinco piezas de solomo fresco del grupo control. Se procedió de esta manera, para asegurar que los recuentos reflejaran la posible contaminación durante los tratamientos, pero no la posible recontaminación debida a la manipulación asociada al drenado y al pesaje. Los análisis microbiológicos efectuados fueron recuento total aerobio, determinación de bacterias lácticas, determinación de esporulados anaerobios mesófilos y determinación de coliformes, todos según los procedimientos enunciados por Vanderzant y Splittstoesser (1992).

Durante su envío al laboratorio las piezas aún en su empaque original se depositaron en un bolso térmico durante el breve período del traslado al laboratorio (45 minutos).

El recuento total de microorganismos aerobios se efectuó, únicamente para el grupo control, a fin de tener una estimación de la carga aerobia inicial.

### **Determinación de la fuerza de corte**

Determinadas las pérdidas de peso, las estimaciones de pH y las evaluaciones microbiológicas, se procedió a obtener un corte transversal de 2,54 centímetros de grosor (filete), efectuado en el sector central de cada una de las 20 piezas de solomo que integraron los cuatro tratamientos y el grupo control. Un estudio previo (Chacón 2005) determinó que esta posición era la indicada en términos estadísticos de acuerdo con la variabilidad observada a lo largo de las piezas de solomo.

Los filetes obtenidos se empacaron al vacío en bolsas individuales para facilitar su transporte, y se

depositaron en un bolso térmico a una temperatura de refrigeración durante el breve período del traslado al laboratorio (1 hora).

Al arribar, aquellos filetes que como parte del tratamiento fueron sometidos a un procedimiento de cocción, se encontraban ya listos para la medición de la fuerza de corte. Los que arribaron crudos, se cocinaron a la parrilla en un horno eléctrico a 300 °C en modo "Broil", de acuerdo al método descrito por la American Meat Science Association (1978), hasta que la temperatura interna llegó a los 55 °C, luego se voltearon, y cuando alcanzaron una temperatura interna de 70 °C se sacaron del horno.

Para la medición de las temperaturas se utilizó un termopar insertado en el centro de cada filete, el cual se encontraba conectado a un aparato termoregistrador Cole-Palmer modelo 8534-25. Finalizada la cocción, se permitió un período de dos horas para el enfriamiento. Posteriormente, se eliminaron los bordes de cada uno de los filetes y se extrajo aleatoriamente de cada uno de ellos un mínimo de cinco muestras cilíndricas de 1,27 cm de diámetro y 2,54 cm de largo, procurándose que cada una de ellas no presentará irregularidades como nervios, venas o cartílagos. Dichas muestras se obtienen utilizando una herramienta hueca, cilíndrica, afilada, que es parte del texturómetro utilizado, y con la que se efectúa el corte a través de los filetes.

Se determinó la fuerza de corte en  $\text{kg}/\text{cm}^2$  de cada cilindro empleando para ello un texturómetro Instron modelo 1000 funcionando en el modo "Peak", para una celda de 50 kg, un rango de 20 kg y una velocidad de 50 mm por minuto.

#### **Análisis estadístico de los datos de fuerza de corte**

A partir de los promedios obtenidos para cada uno de los tratamientos y para el grupo de control, se efectuó primeramente un análisis de varianza tomando la fuerza de corte como variable dependiente para verificar la existencia de evidencia estadística que demuestre o rechace la hipótesis nula de que los promedios de cada tratamiento no son significativamente diferentes

entre sí. Una vez demostrado lo anterior, se llevó a cabo una prueba Post Hoc de Scheffé de comparación múltiple de promedios para la fuerza como variable dependiente, que es una metodología de fácil interpretación, está estandarizada para cantidades desiguales de datos, y es de las más conservadoras. Esto último es útil en casos donde la variabilidad es muy acentuada (Williams 1959; Scheffé 1959). Este procedimiento ofrece muchas ventajas para los propósitos de esta investigación, como el garantizar que el error experimental tipo I nunca excederá la condición  $p < 0,05$  sin importar la cantidad de comparaciones a efectuar. La prueba de Scheffé, agrupó a los tratamientos en grupos homogéneos significativamente diferentes de los demás según la fuerza de corte promedio, es decir, en grupos dentro de los cuales no existen diferencias significativas. De esta forma, si los promedios para la fuerza de corte de dos o más tratamientos quedan ubicados dentro de un mismo grupo, esto significa que los efectos de esos tratamientos en la fuerza de corte no son significativamente diferentes entre sí.

En el procesamiento de los datos de fuerza de corte, así como en todas las evaluaciones estadísticas realizadas en este estudio, se empleó el programa estadístico SPSS versión 8.0 para ambiente Windows. En todas las determinaciones las potencias de prueba fueron iguales o superiores al 90%

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Determinación del pH previo y posterior a los procedimientos de maduración.**

Al efectuar la determinación del pH al final de la maduración de los solomos inyectados se tiene que el mismo es en promedio igual a  $5,2 \pm 0,1$ . Al evaluar de la misma forma los solomos frescos, estos presentaron un valor promedio de pH característico igual a  $5,4 \pm 0,1$ . Por medio de un análisis estadístico se determinó que existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre el pH estimado para los solomos inyectados y madurados con respecto a los solomos frescos. En otras palabras, la acidez de los solomos disminuyó significativamente a lo largo de la maduración, lo cual evidencia el proceso de respiración muscular donde



el glucógeno es transformado en ácido láctico, tal y como describen Belitz y Grosch (1985).

Los valores de pH obtenidos para el proceso de maduración pueden catalogarse dentro de lo considerado como normal (Troy 1994). Al ser el solomo un músculo fuertemente vinculado con el movimiento, podría explicarse que el pH sea relativamente bajo al final del *rigor mortis*, al ser más extensiva la producción de ácido láctico debido a la presencia de mayores reservas de glucógeno (Chacón 2004). La disminución en el pH confirma los supuestos teóricos enunciados por Cole y Lawrie (1975), quienes señalan que para un período de maduración de siete días la variación en el pH de una pieza de carne puede ser tan baja como 0,2. Valores de pH como los obtenidos podrían de hecho estar relacionados con un mayor grado de contracción muscular durante el rigor, lo cual unido al contenido de 2,9% de tejido conectivo reportado por la bibliografía para el solomo (Chacón 2005), podría explicar en parte la dureza final característica de este corte.

Evidencia experimental señala un efecto más acentuado en la degradación atribuida a las calpaínas, a medida que el pH es más alto y por ende, más cercano al punto óptimo *in vivo* de entre 7,2 y 8,2 (Troy 1994; Beltrán *et al.* 1997; Maddock *et al.* 2005). A un pH más bajo, si bien la acción es menor, la misma es suficiente para permitir una mejora apreciable en la suavidad, especialmente si se aplica un estímulo externo como la inyección con CaCl<sub>2</sub> (Wheeler 2000<sup>3</sup>).

Una característica de la carne profundamente ligada con el pH, es la capacidad de retención de agua. Los valores de pH obtenidos para el solomo madurado en presencia de CaCl<sub>2</sub> están por sobre el valor reportado de 4,7 a 5,0 (punto isoeléctrico) al cual la capacidad de retención del agua es mínima (Cole y Lawrie 1975). No obstante, estos valores se encuentran dentro del intervalo de 5,0 a 5,5 donde la capacidad de retención de agua es baja (Belitz y Grosch 1985).

#### Determinación de la pérdida de peso atribuida a los tratamientos

El proceso por medio del cual una pieza de carne pierde peso, está íntimamente ligado a una disminución

en la capacidad de retención de agua. Mucha del agua existente en una pieza de carne se encuentra intracelularmente, por lo general ocupando espacios intra y exomiofibrilares (Huff-Lonergah y Lonergan 2005). Es por ello que cambios en la arquitectura intracelular como los provocados por el procesamiento, pueden provocar pérdidas porcentuales de peso, cuya magnitud no sólo tiene implicaciones económicas, sino que además es indicador de la magnitud del cambio bioquímico provocado. A pesar de que en un proceso como la cocción la mayor parte de la pérdida corresponde al agua, muchos otros componentes como nutrientes disueltos o hasta grasa y tejido conectivo licuados forman parte del total perdido.

En el Cuadro 1 se resumen las pérdidas porcentuales de peso determinadas en cada uno de los tratamientos experimentales con un intervalo de confianza del 99,9%.

**Cuadro 1.** Pérdida porcentual de peso del solomo estimada al final de cada uno de los tratamientos experimentales posteriores a la inyección de una disolución de cloruro de calcio. San José, Costa Rica, 2005.

Tratamiento	Porcentaje de pérdida (%) <sup>(1)</sup>
Inyección y maduración	4,1 ± 0,2
Inyección, maduración y cocción	27 ± 1
Inyección, maduración y congelación	6,3 ± 0,3
Inyección, maduración, cocción y congelado	27 ± 1

<sup>(1)</sup> Porcentaje masa en masa.

La bibliografía reporta (Chacón 2005), que en tratamientos homólogos a los acá ensayados, pero que no incluían la inyección de cloruro de calcio, las pérdidas de peso son menores. En ese caso, las mismas correspondieron a 2,5% para la maduración, 22 % para la maduración y cocción, 5,0% para la cocción y 23% para todos los procesos combinados. Las mayores pérdidas son de esperarse, dado que el fluido inyectado es técnicamente equivalente a "agua libre" que fácilmente se pierde en los tratamientos. A esto se suma que en los tratamientos evaluados en este ensayo, la ruptura de la integridad muscular es común en todos ellos, ya sea por la acción proteolítica de las calpaínas,

por el efecto mecánico teórico de la congelación o bien por la desnaturalización, contracción y coagulación de la proteína por efecto de la cocción (Belitz y Grosch 1985). En el caso de la cocción, estos efectos no solo expulsan el agua, sino que podría tener implicaciones en la dureza final (Clausen y Lassen 2002), independientemente de si el efecto térmico sobre el colágeno llega a ser acentuado.

Al ser mayor la cantidad de agua libre, dada la existencia de los ya presentes los fluidos naturales de la carne sumados ahora a los artificialmente incluidos al inyectar; y al darse una disminución de la capacidad de retención de agua de las piezas debido a los tratamientos, no es de extrañar que el efecto combinado genere una mayor pérdida general en los tratamientos que involucraron la inyección. Lo anterior explica, a su vez, que la disminución del peso es mayor en las piezas que involucraron inyección y cocción.

A juzgar por la diferencia porcentual registrada entre las piezas, un porcentaje importante del fluido inyectado se pierde durante la cocción. No obstante, si se considera que las calpaínas son destruidas durante la cocción, esta pérdida no tiene importancia desde el punto de vista de la continuidad del proceso proteolítico. Por otro lado, los porcentajes de pérdida de peso atribuibles a la cocción están dentro de los parámetros normales que son de un 20% y un 40% (Cole y Lawrie 1975).

Según la caracterización química del solomo efectuada previamente por Chacón (2005), su porcentaje de humedad de 75% es el típico esperado en muestras de carne frescas (Cole y Lawrie 1975; University of Illinois Animal Sciences Department 1999). Lo mismo aplica para su 10% de proteínas miofibrilares, su 2,3% de grasa y 3,0 % de tejido conectivo. Lo anterior, da pie a que no existan argumentos que señalen que los mecanismos de degradación muscular y pérdida de capacidad de retención de agua, asociados a los tratamientos, puedan tener una dinámica significativamente diferente a la descrita por la teoría, para los cortes de carne en general.

Aunque es deseable que las pérdidas de peso debidas a los tratamientos sean lo menores posibles, éstas son aceptables. No existe un criterio que permita afirmar que las pérdidas de peso obtenidas sean

tales, que descalifiquen la rentabilidad en el uso de los tratamientos de inyección de disoluciones de cloruro de calcio, todo caso que desde el principio la función técnica primordial de dichos tratamientos es conseguir una mejora en la suavidad, y no generar una mayor masa de producto final. Si esto es cierto, para los tratamientos que involucran la cocción, lo es aún más para los tratamientos simples de maduración posteriores a la inyección, y cuando ésta se combina con congelación.

Al comparar estadísticamente las pérdidas de peso por medio de un análisis de varianza, seguido de una prueba *post hoc* de Duncan, solamente los tratamientos que involucraron la cocción no son significativamente diferentes entre sí ( $p > 0,05$ ). Esto indica que la congelación sí aumenta la pérdida de peso, en comparación a si la pieza sólo se madurara, pero que ese efecto de la congelación no es notorio cuando se efectúa una cocción previa de la pieza. La congelación registra cierta desnaturalización documentada de las proteínas (Judd 1993), no obstante la misma evidencia, por los datos aquí expuestos, es muy inferior a la provocada por la cocción. En este caso, la explicación más probable es que los efectos de la cocción son tales que se eliminó la gran mayoría del agua libre remanente después del *rigor mortis* y una parte considerable del agua inmovilizada, haciendo que cualquier efecto posterior de la congelación en este sentido pase inadvertido (Belitz y Grosch 1985).

El tratamiento que involucró solo inyección y maduración, generó una menor pérdida de peso, lo cual era de esperar no solo por ser el menos traumante para la integridad general del músculo, si no que puede también fundamentarse en el hecho de que durante la maduración, la capacidad de retención de agua aumenta como consecuencia de la liberación de proteína miofibrilar, como producto de la acción proteolítica (Belitz y Grosch 1985). El hecho de que la maduración posterior a la inyección genere pérdidas mayores a los valores documentados por Chacón (2005) para la maduración del solomo sin inyección, no permite descalificar la afirmación anterior, dado que el volumen inyectado hace que la pieza presente una mayor cantidad de agua intramuscular, no asociada directamente en forma natural con el músculo, y que por lo tanto, es más susceptible a ser eliminada. De hecho, si se analiza que el volumen perdido por estas piezas es muy similar a aquel inyectado, y que el grado de proteólisis

y de liberación de proteína miofibrilar esperado en ellas es mayor dada la estimulación de las calpaínas, podría más bien estarse evidenciando un aumento en la capacidad de retención de agua en comparación con un tratamiento de maduración sin inyección.

La presencia de sales podría tener un efecto sobre la capacidad de retención de agua, la cual está en función del pH de la carne. En el caso del CaCl<sub>2</sub>, la capacidad de retención de agua podría verse sustancialmente aumentada. Este efecto es principalmente debido al ión Cl<sup>-</sup>, el cual como sucede con el NaCl, causa un debilitamiento en la interacción entre grupos opuestamente cargados para valores de pH por encima del punto isoeléctrico, tal y como el que se tiene para el solomo. La adición de sales propicia así una formación mayoritaria de enlaces aniónicos y por lo tanto un desplazamiento del punto isoeléctrico. Este aumento en la capacidad de retención podría estar vinculado al hecho de que, en aquellos tratamientos donde se dio la inyección de CaCl<sub>2</sub> sin que mediara la cocción, la pérdida de peso no fuese muy acentuada. La proteólisis que se da durante la maduración permite la liberación de más sitios activos al fragmentarse la proteína. Como consecuencia, se generan más sitios que pueden interactuar con el agua aumentándose así con el tiempo la retención.

### Determinaciones microbiológicas

Los resultados microbiológicos obtenidos al evaluar los diferentes tratamientos se presentan en el Cuadro 2.

Por los resultados obtenidos para el solomo empleado como materia prima fresca, puede afirmarse que el mismo posee una calidad sanitaria muy aceptable antes de dar inicio a los tratamientos, constituyendo ésto un índice que denota un adecuado control de los procesos de matanza, desangrado, desollado y deshuese efectuados como parte del proceso.

En los tratamientos que involucraron la cocción, los recuentos en general son como se esperaba más bajos, siendo esto particularmente importante en el caso de los bajos “Números Más Probables” (NMP) de coliformes. Esto constituye un fuerte indicador de que se efectuó un proceso de cocción exitoso desde un punto de vista de la calidad sanitaria. Para coliformes, los conteos típicos citados por la bibliografía son del orden de menos de 10/g. Contrariamente a lo que sucede con la cocción, estos microorganismos pueden sobrevivir a los procesos de refrigeración y congelación, aunque no crecerán mientras la temperatura sea inferior a los 10 °C (Mermelstein 1993). Este hecho

**Cuadro 2.** Intervalos de población bacteriana determinados para el solomo fresco y al final de cada uno de los tratamientos experimentales. San José, Costa Rica, 2005.

Tratamiento aplicado al solomo	Recuento total aerobio (UFC/g) <sup>(1)</sup>	Lácticas (UFC/g)	Coliformes <sup>(2)</sup>	Anaerobios mesófilos (NMP/g)
Control	10 <sup>2</sup>	<10	10 UFC/g	<3
Inyección y maduración		10 <sup>2</sup>	<10 UFC/g	<3
Inyección, maduración y cocción		[10–10 <sup>2</sup> ]	<3/g	<3
Inyección, maduración y congelación		10 <sup>2</sup>	[<3–9,1]	<3
Inyección, maduración, cocción y congelación		<10	<3/g	<3

1) Determinado únicamente para las muestras frescas donde no se empacó al vacío.

2) En términos de UFC/g para aquellos tratamientos donde no se dio la cocción ni congelación, y en términos del NMP/g en los demás casos. Esto debido al efecto de los tratamientos anteriores sobre la flora que hacen del NMP/g la manera más idónea de caracterización.

puede explicar por qué el NMP determinado al final de los tratamientos que tienen a la congelación como último procedimiento, es ligeramente mayor que en los casos que involucran tratamiento térmico.

Todas las determinaciones del número más probable de esporulados anaerobios mesófilos arrojaron resultados negativos (< 3/g), garantizándose así el buen manejo de los diferentes procesos (Delazari *et al.* 1980; Jeremiah 1999<sup>4</sup>; Dickson 2000<sup>5</sup>). Para estos microorganismos las poblaciones típicas en carne fresca no empacada pueden alcanzar recuentos de menos de  $1 \times 10^3$ /g, llegando a ser en carnes cocinadas menores a 100/g (Delazari *et al.* 1980; Dickson 2000<sup>5</sup>). Para productos empacados al vacío puede definirse como deseable su ausencia (Jeremiah 1999<sup>4</sup>).

Ninguno de los tratamientos evaluados arrojó resultados que pudiesen evidenciar problemas de calidad debidos a las bacterias lácticas, todo caso que son necesarios recuentos iguales o superiores a  $1 \times 10^8$  UFC/g para que se presenten problemas de esta índole (Dickson 2000<sup>5</sup>).

El pH final estimado para el solomo antes y después de la maduración, difícilmente tendrá efecto inhibitorio alguno sobre las poblaciones bacterianas, que como las aquí evaluadas, crecen en la carne. Basta con comparar los valores de pH obtenidos (5,2 a 5,4), con aquellos a los que puede haber crecimiento de los microorganismos estudiados. Los coliformes tiene un ámbito de entre 4,4 y 9,0, las bacterias lácticas uno que va de 3,8 a 7,2 y finalmente los esporulados pueden crecer para valores de pH superiores a 4,8 (Delazari *et al.* 1980; Vanderzant y Spittstoesser 1992).

Sobre la base de los resultados obtenidos, no es posible afirmar que el proceso de inyección con cloruro de calcio ejecutado sanitariamente, y en combinación con los otros procedimientos, posea algún efecto adverso sobre la calidad microbiológica del solomo. De la misma manera, no es posible afirmar que la suavidad de la carne obtenida para el solomo en las

pruebas efectuadas esté necesariamente influenciada por algún tipo de actividad bacteriana importante, en conjunción con la acción proteolítica esperada por parte de las calpaínas. Estudios futuros deberán establecer si los recuentos totales de aerobios registrados incluyen suficientes bacterias proteolíticas como para tener un efecto apreciable en la suavidad final de la carne.

### Evaluación de la fuerza de corte

Un análisis de varianza señaló la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) entre los promedios de la variable fuerza de corte en los tratamientos efectuados. Por esta razón se ejecutó una prueba de Scheffé posterior para comparar el promedio de fuerza de corte para cada uno de los tratamientos experimentales. Los resultados obtenidos se presentan en el Cuadro 3.

**Cuadro 3.** Grupos homogéneos para los promedios estimados de las fuerzas de corte (kg/cm<sup>2</sup>) de cada uno de los tratamientos según la prueba de Scheffé. San José, Costa Rica. 2005.

Tratamiento aplicado	Número de mediciones	Grupos homogéneos ( $\alpha=0,05$ )		
		1	2	3
Inyección, maduración y congelación	231	3,81		
Inyección y maduración	104	3,98		
Inyección, maduración, cocción y congelación	246		4,91	
Inyección, maduración y cocción	100		5,04	
Control	99			7,45

Boleman *et al.* (1997), reportan que aquellas carnes con fuerzas de corte dentro del intervalo 5,90-7,45 kg/cm<sup>2</sup> tienen una aceptación de menos de 1,8%; aquellas dentro del intervalo 4,08-5,40 kg/cm<sup>2</sup> una del 3,6%, mientras que aquellas entre 2,27-3,58 kg/cm<sup>2</sup> son bien recibidas por el 94,6% de las personas.

Las fuerzas de corte para el solomo control, tienen hacia un valor promedio alto y significativamente diferente ( $p < 0,05$ ) de todos los demás, el cual es igual a de 7,45 kg/cm<sup>2</sup>. Por esta razón, puede ser considerado como de baja aceptación. Sobre la base de la

<sup>4</sup> JEREMIAH, L.E. 1999. Consideraciones microbiológicas sobre la cocción al vacío. L. E. Jeremiah and Associates. Alajuela, Costa Rica. Comunicación Personal. Correo electrónico.

<sup>5</sup> DICKSON, J.S. 2000. La calidad microbiológica de la carne. Iowa State University, College of Agriculture. Alajuela, Costa Rica. Comunicación Personal. Correo electrónico.

diferencia significativa evidenciada, puede afirmarse que cualquiera de los tratamientos aplicados al solomo mejora su suavidad final.

Los tratamientos aplicados al solomo que implicaron la cocción húmeda escalonada en agua hirviendo, formaron parte de un grupo homogéneo diferente significativamente al de aquellos que no involucraron este proceso ( $p < 0,05$ ).

El tratamiento de maduración con inyección, y su homólogo seguido de congelación generaron las fuerzas de corte finales más bajas de todas tal y como señala el Cuadro 3. Entre ambos tratamientos no es posible establecer una diferencia significativa, aunque el valor promedio ligeramente menor del tratamiento que involucra la congelación podría señalar indicios de un leve efecto mecánico en la suavidad. Más pruebas son necesarias si se desea evidenciar estadísticamente este efecto. Lo anterior, podría verse también apoyado en el hecho que durante los primeros siete días de maduración, se dan la gran mayoría de los cambios *postmortem* asociados con la dureza final, por lo cual es poco lo que la suavidad puede mejorarse por vía enzimática posteriormente a ese período (Parrish 1999). Por otro lado, los resultados conducen a la conclusión de que el congelamiento posterior no tiene un efecto tal que haga que la dureza obtenida al final de una maduración con presencia de  $\text{CaCl}_2$  desmejore. Piezas tratadas con  $\text{CaCl}_2$  pueden ser entonces congeladas sin que esto afecte adversamente su suavidad final.

La maduración en presencia de  $\text{CaCl}_2$  arroja menores fuerzas de corte que aquellas enunciadas por Chacón (2005) para un solomo madurado sin presencia de este agente ( $5,50 \text{ kg/cm}^2$ ), y para aquellas correspondientes a un solomo simplemente madurado y posteriormente congelado ( $5,42 \text{ kg/cm}^2$ ). Estos resultados evidencian una estimulación de las calpaínas debido al  $\text{CaCl}_2$ , lo que se manifiesta en la mejor suavidad final obtenida. La proteólisis que debió en consecuencia haberse provocado, apoya también la hipótesis antes planteada en torno a la mayor retención de agua de las piezas tratadas con  $\text{CaCl}_2$  debido a una mayor cantidad de proteína libre en conjunción con una fuerza iónica mayor debida al contenido salino. Si existió un efecto adverso de la fuerza iónica sobre la

capacidad proteolítica de las calpaínas como sugieren Maddock *et al* (2005) para altas concentraciones salinas, el mismo no provocó un impacto tal como para que no se lograra una sustancial mejora en la suavidad como la evidenciada en este experimento.

Igualmente, a pesar de que los valores de pH medrados para las muestras están por debajo de rango óptimo de acción de las calpaínas, las mismas evidenciaron tener una actividad proteolítica que mejoró significativamente la dureza del solomo. Estudios posteriores, podrían evaluar el efecto de incrementos en la concentración de la disolución de inyección en ámbitos mayores al acá empleado, para establecer si se puede lograr una mejora mayor en la suavidad antes de que la misma afecte el desempeño de las calpaínas.

Es importante tener en consideración que el tejido conectivo no se ve afectado por las calpaínas durante la maduración, y que parte de la dureza que el corte de carne exhibe aún después de este proceso puede deberse al contenido relativamente elevado de estas proteínas estromales que posee el solomo (Chacón 2005).

Por medio de la inyección de  $\text{CaCl}_2$  anterior a la maduración se logra para los tratamientos que no involucran cocción, fuerzas de corte promedio que están en el límite inferior del grupo de aceptación media (Boleman *et al.* 1997), por lo cual la aceptación del solomo mejora dramáticamente con respecto a la pieza fresca no tratada.

Los tratamientos que involucraron cocción húmeda en marmita, presentan fuerzas de corte promedio más elevadas que aquellos que solo involucraron la maduración y congelación. El aumento en la fuerza de corte puede deberse, como se detalló con anterioridad, al proceso de contracción sufrido durante el proceso y a un efecto térmico negativo sobre la fracción de elastina del tejido conectivo. Según los promedios detallados en el Cuadro 3, las fuerzas de corte de las piezas cocinadas se encuentran en el promedio del intervalo de mediana aceptación (Boleman *et al.* 1997), siendo aproximadamente superiores en  $1 \text{ kg/cm}^2$  a los procedimientos donde no hubo cocción. Aún cocinadas las piezas, experimentan un incremento significativo de la suavidad con respecto al solomo sin tratamiento alguno.

Si se consideran aspectos como la simplicidad, el tiempo y el costo de procesamiento, el tratamiento integrado por una inyección previa de CaCl<sub>2</sub> seguida de empacado al vacío y maduración es el que ofrece mejores resultados. Es recomendable para el solomo el ensayo de métodos alternativos donde se ajuste la concentración ideal de la disolución de inyección.

## LITERATURA CITADA

- ALAYAN, M. 1997. Calpains and meat tenderness: mode of action and activity regulation (en línea). Consultado 25 ene. 1999. Disponible en: [http://www.lincoln.ac.nz/ansc/moha\\_www.htm](http://www.lincoln.ac.nz/ansc/moha_www.htm)
- AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. 1978. Guidelines for cookery and sensory evaluation of meat. American Meat Science Association in cooperation with The National Livestock and Meat Board. Chicago, USA. 24 p.
- BAILEY, A.; RESTALL, D.; SIMS, T.; DUANCE, V. 1979. Meat tenderness. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 30(2): 203-209.
- BAKI, A.; TOMPA, P.; ALEXA, A.; MOLNÁR, O.; FRIEDRICH, P. 1996. Autolysis parallels activation of  $\mu$ -calpain. *Biochemistry Journal*. 318: 897-901.
- BARON, C. P.; JACOBSEN, S.; PURSLOW, P. P. 2004. Cleavage of desmin by cysteine proteases: calpains and cathepsin B. *Meat Science* 68(3): 447-456.
- BELITZ, H.W.; GROSCH, W. 1985. *Química de los alimentos*. Zaragoza, España. Acribia. 813 p.
- BELTRÁN, J.A.; JAIME, I.; SANTOLARIA, P.; SANUDO, C.; ALBERTI, P.; RONCALES, P. 1997. Effect of stress induced high *postmortem* pH on protease activity and tenderness of beef. *Meat Science* 45(2): 201-207.
- BOEHM, M.L.; KENDALL, T.L.; THOMPSON, V.F.; GOLL, D.E. 1998. Changes in the calpains and calpastatin during *postmortem* storage of bovine muscle. *Journal of Animal Science* 76(9): 2415-2434.
- BOLEMAN, S.J.; BOLEMAN, S.L.; MILLER, R.K.; TAYLOR, J.F.; CROSS, H.R.; WHEELER, T.L.; KOOH-MARAIE, M.; SHACKELFORD, S.D.; MILLE, M.F.; WEST, R.L.; JOHNSON, D.D.; SAVELL, J.W. 1997. Consumer evaluation of beef of known categories of tenderness. *Journal of Animal Science* 75: 1521-1524.
- BOSTAN, K. ; NAZLI, B.; ARUN, Ö. Ö. 2001. Effect of electrical stimulation on meat tenderness and microflora. *Veteriner Fakültesi Dergisi* 27 (2): 547-556.
- BRUCE, H.L.; BALL, R. 1990. Effects of *postmortem* glycolysis on the quality of hot deboned bovine muscle. *Canadian Journal of Animal Science* 70(2): 431-439.
- BUTS, B.; CLAEYS, E.; DEMEYER, D. 1987. Protein fragmentation and meat tenderness. *Mededelingen Van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent* 52 (4): 1529-1538.
- CHACÓN, A. 2004. La suavidad de la carne: implicaciones físicas y bioquímicas asociadas al manejo y proceso agroindustrial. *Agronomía Mesoamericana* 15(2):225-243.
- \_\_\_\_\_. 2005. Evaluación de la maduración, cocción y congelamiento sobre la suavidad, rendimiento y carga microbiana del corte de solomo (Outside). *Agronomía Mesoamericana* 16(2): 199-213.
- CLAUSEN, I.; LASSEN, A. 2002. Cooking meat: myths, facts and new methods. *Fodevare Rapport* 1: 1- 86.
- COLE, D.J.A.; LAWRIE, R.A. 1975. *Meat*. Connecticut, E.E.U.U. Editorial AVI. 596 p.
- COSTELL, E. 1992. Influencia del envase en la aceptabilidad de los alimentos. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos* 32(5): 493-507.
- DAYTON, W.R.; SCHOLLMMEYER, J.V. 1981. Immunocytochemical localization of calcium activated protease in skeletal muscle cell. *Experimental Cell Research* 136: 423-433.
- DELAZARI, I.; GERALDINI, A.; LEITAO, M.F.; CORTE, O.O. 1980. Incidencia de bacterias esporogénicas

- anaerobias em carne bovina. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos 17(4): 441-450.
- DOUMIT, M.; KOOHMARAIE, M. 1999. Immunoblot analysis of calpastatin degradation: evidence for cleavage by calpain in *postmortem* muscle (en línea). Consultado 15 ene. 1999. Disponible en: <http://www.nal.usda.gov/ttic/tektran/data/>
- DUCKETT, S. K.; ANDRAE, J. G.; PRITCHARD, G. T.; SKOW, T. A.; CUVALA, S. L.; THORNGATE, J. H.; SANCHEZ, W. K. 2001. Effects of pre-slaughter administration of oral calcium gel to beef cattle on tenderness. Canadian Journal of Animal Science 81(1): 33-38.
- ELCE, J.S.; HEGADORN, C. ; ARTHUR, J.S.C. 1997. Autolysis, Ca<sup>2+</sup> requirement, and heterodimer stability in m-calpain. Journal of Biological Chemistry 272(17): 11268-11275.
- GEESINK, G. ; KOOHMARAIE, M. 1998. Effect of calpastatin on degradation of miofibrillar proteins by  $\mu$ -calpain under *postmortem* conditions (en línea). Consultado 25 ene. 1999. Disponible en: <http://www.nal.usda.gov/ttic/tektran/data/>
- \_\_\_\_\_. 1999. *Postmortem* Proteolysis and calpain calpastatin activity in callipyge and normal lamb *biceps femoris* during extended *postmortem* storage. Journal of Animal Science 77: 1490-1501.
- GEESINK, G. H.; TAYLOR, R. G. ; KOOHMARAIE, M. 2005. Calpain 3/p94 is not involved in *postmortem* proteolysis. Journal of Animal Science 83(7): 1646-1652
- GILCHRIST, J.S.C. 1999. Identification and purification of nuclear calcium binding proteins (en línea). Consultado 10 marzo 1999. Disponible en: <http://www.umantoba.ca/faculties/dentistry/OralBio/gilchris.html>
- GOLL, D.E. 1997. The Ca<sup>2+</sup> dependent protease system (en línea). Consultado 16 nov. de 1998. Disponible en: <http://www.biochem.arizona.edu/classes/bio-c496A/gollsumm.html>
- \_\_\_\_\_; DAYTON, W.R; INDERJIT, S.; ROBSON, R.M. 1991. Studies of the alpha actinin/actin interaction in the Z disk by using calpain. Journal of Biological Chemistry 266(13): 8501-8510.
- \_\_\_\_\_; TAYLOR, R.G; OUALI, A.; CHOU, R.R. 1999. The calpain system in muscle tissue. In: Wang, K.K.W; Yuen, P.; Yuen, P. eds. Calpain: Pharmacology and Toxicology of Calcium Dependent Protease. Taylor and Francis. Estados Unidos de América. 448 p.
- \_\_\_\_\_; THOMPSON, V.F.; TAYLOR, R.G.; ZELEWSKA, T. 1992. Is calpain activity regulated by membranes and autolysis or by calcium and calpastatin? BioEssays 14(8): 549-556.
- GOLOVKIN, N.A.; IVANOVA, R.; SHAROBAIKO, V.; VOROB'EVA, N. 1984. Changes in meat tenderness during storage. Proceedings of the European Meeting of Meat Research Workers 30: 4-20.
- HABER, A.; RUNYON, R. 1973. Estadística general. Estados Unidos de América. Editorial Fondo Educativo Interamericano. 371 p.
- HEINEMANN, R. J. B.; PINTO, M. F. 2003. Effect of different concentration of calcium chloride in texture and acceptability of aged beef. Ciência e Tecnologia de Alimentos 23: 146-150.
- HOPKINS, D. L.; TAYLOR, R. G. 2004. *Postmortem* muscle proteolysis and meat tenderness. In: Pas, M. F. W.; Everts, M. E.; Haagsman, H. P. eds. Muscle development of livestock animals: physiology, genetics and meat quality. Massachusetts. CABI Publishing. 432 pp.
- HUANG, M.; ZHOU, G.; XU X.; WANG J. 2004. Mechanism of *postmortem* tenderization of beef. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering 20(1): 198-202.
- HUERTA-LEIDENZ, N. O.; RODAS-GONZÁLEZ, A. R.; SMITH, G. C. 2004. Effect of vacuum aging and influence of sire on palatability of beef longissimus from grass-fed F1 Senepol x Zebu bulls. Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Del Zulia 14(3): 263-269.
- HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S. M. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: the role

- of *postmortem* biochemical and structural changes. *Meat Science* 71(1): 194-204
- HWANG, I. H.; DEVINE, C. E.; HOPKINS, D. L. 2003. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Science* 65 (2): 677-691.
- JOSEPH, R. 1971. Production of tender beef. *Food Manufacture* 46(10): 29-33.
- JUDD, S. 1993. Packaging chilled meat for export. *Food Technology in New Zealand* 28(8): 32-33.
- KANAWA, R.; JI, J. R.; TAKAHASHI, K. 2002. Inactivity of  $\mu$ -calpain throughout *postmortem* aging of meat. *Journal of Food Science* 67(2): 635-638
- KINBARA, Y.; SORIMACHI, H.; ISHIURA, S.; SUSUKI, K. 1998. Skeletal muscle specific Calpain p94. *Biochemical Pharmacology* 56(4): 415-420.
- KOOHMARAIE, M. 1992. The role of Ca<sup>2+</sup> dependent proteases (calpains) in *postmortem* proteolysis and meat tenderness. *Biochimie* 74(3): 239-245.
- \_\_\_\_\_. 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science* 36 (1/2): 93-104.
- \_\_\_\_\_.; DOUMIT, M.; WHEELER, T. 1996. Meat toughening does not occur when rigor shortening is prevented (en línea). Consultado 25 ene. 1999. Disponible. <http://www.nal.usda.gov/ttic/tetran/>
- \_\_\_\_\_.; KENT, M. P.; SHACKELFORD, S. D.; VEISETH, E.; WHEELER, T. L. 2002. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? *Meat Science* 62(3): 345-352
- KUMAMOTO, T.; KLEESE, W.C.; CONG, J.; GOLL, D.E.; PIERCE, P.R.; ALLEN, R.E. 1992. Localization of the Ca<sup>2+</sup> dependent proteinases and their inhibitor in normal, fasted, and denervated rat skeletal muscle. *Acta Neuropathologia* 32(5): 493-507.
- LAMETSCH, R.; ROEPSTORFF, P.; MOLLER, H. S.; BENDIXEN, E. 2004. Identification of myofibrillar substrates for micro calpain. *Meat Science* 68(4): 515-521.
- LOURDES, M.; ESCALONA, H.; GUERRERO, I. 1998. Effect of calcium chloride marination on calpain and quality characteristics of meat from chicken, horse, cattle and rabbit. *Meat, Poultry and Game* 48(1-2): 125-134.
- MADDOCK, K. R.; HUFF-LONERGAN, E.; ROWE, L. J.; LONERGAN, S. M. 2005. Effect of pH and ionic strength on  $\mu$  and m-calpain inhibition by calpastatin. *Journal of Animal Science* 83(6): 1370-1376
- MALTIN, C.; BALCERZAK, D.; TILLEY, R.; DELDAY, M. 2003. Determinants of meat quality: tenderness. *Proceedings of the Nutrition Society* 62(2): 337-347
- MENZIES, D. 1997. Beef industry tries a little tenderness (en línea). Consultado 25 ene. 1999. Disponible. [http://www.foodincanada.com/content/1997/03-97/f11\\_features.html](http://www.foodincanada.com/content/1997/03-97/f11_features.html)
- MERMELSTEIN, N.H. 1993. Controlling *E. coli* 0157:H7 in meat. *Food Technology* 47(4): 90-91
- MOLINA, A. D.; OTERO, L.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E.; ARABAS, J.; SZCZEPEK, J.; SANZ, P. D. 2004. Ice VI freezing of meat: supercooling and ultrastructural studies. *Meat Science* 66(3): 709-718
- MONTGOMERY, J. L.; PARRISH, F. C.; BEITZ, D. C.; HORST, R. L.; HUFF-LONERGAN, E. J.; TRENKLE, A. H. 2000. The use of vitamin D to improve beef tenderness. *Journal of Animal Science* 78(10): 2615-2621
- MUELLER, W. 1990. Improvement of the tenderness of roosting meat by mechanical treatment. *Mitteilungsblatt der Bundesanstalt fuer Fleischforschung Kulmbach* (107): 24-28.
- ONO, Y.; SORIMACHI, H.; SUSUKI, K. 1998. Structure and physiology of calpain, an enigmatic protease. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 245: 289-294.
- PARRISH, F.C. 1999. Aging of beef (en línea). Consultado 21 ene. 1999. Disponible en: <http://www.beef.org/8010/beef/librpub/pcrifact/aging.htm>



- PEREZ, M. L.; GUERRERO, I.; GUTIERREZ, M. C.; BETANCOURT, J. M. 2005. Effect of calcium chloride marination and collagen content on beef, horse, rabbit and hen meat hardness. *Journal of Muscle Foods* 16(2): 141-154
- POLIDORI, P.; KAUFFMAN, R.; VALFRE, F. 1996. The effects of electrical stimulation on meat quality. *Italian Journal of Food Science* 8(3): 183-199.
- PRATES, J. A. M. 2002. Factors and mechanisms responsible for meat ageing. *Revue de Médecine Vétérinaire* 153(7): 499-506.
- PRINGLE, T.; WILLIAMS, S.; JOHNSON, D.; WEST, L. 1996. The role of the calpain proteinase system in aged tenderness of Angus and Brahman crossbred steers (en línea). Consultado 8 sep. 1998. Disponible en: [http://www.ads.uga.edu/anrpt/1996/96\\_039.htm](http://www.ads.uga.edu/anrpt/1996/96_039.htm)
- QUAGLIA, G.; LOMBARDI, M.; BERTONE, A.; MENE-SATTI, P. 1992. Effect of enzymatic treatment on tenderness characteristics of freeze-dried meat. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 25(2): 143-149.
- RAYNAUD, P.; JAYAT-VIGNOLES, C.; LAFORÊT, M. P.; LEVÉZIEL, H.; AMARGER, V. 2005. Four promoters direct expression of the calpastatin gene. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 437(1): 69-77.
- ROWE, L. J.; MADDOCK, K. R.; LONERGAN, S. M.; HUFF-LONERGAN, E. 2004. Oxidative environments decrease tenderization of beef steaks through inactivation of  $\mu$ -calpain. *Journal of Animal Science* 82(11): 3254-3266.
- SAVELL, J. 1998. Meat tenderization (en línea). Consultado 15 ene. 1999. Disponible en: <http://savel-j.tamu.edu/tender.html>
- SCHEFFÉ, H. 1959. *The analysis of variance*. Londres, Inglaterra. Wiley. 300 p.
- SCHILLING, M.W.; CLAUS, J.R.; MARRIOTT, N.G.; RAND, A.; SOLOMON, M.B.; EIGEL, W.N.; WANG, H. 2002. No effect of hydrodynamic shock wave on protein functionality of beef muscle. *Journal of Food Science* 67(1): 335-340.
- SORIMACHI, H.; ISHIURA, S.; SUSUKI, K. 1997. Structure and physiological function of calpains. *Biochemical Journal* 328: 721-732.
- SPENCER, M.J.; TIDBALL, J.G. 1992. Calpain concentration is elevated although net calcium dependent proteolysis is suppressed in dystrophin deficient muscle. *Experimental Cell Research* 203: 493-507.
- STOUFFER, J. 1975. A method for improving tenderness of carcasses. *New York's Food and Life Sciences Quarterly* 8(1): 14-18.
- SUZUKI, K.; SORIMACHI, H. 1998. A novel aspect of calpain activation. *FEBS Letters* 433:1-4.
- TAKAGI, H.; KONDOU, M.; HISATSUKA, T.; NAKAMORI, S.; YING, C.; YAMASAKI, M. 1992. Effects of alkaline elastase from an alkalophilic *Bacillus* strain on the tenderization of beef meat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 40(12): 2364-2368.
- TAYLOR, R.; GEESINK, G.H.; THOMPSON, V.F.; KOOH-MARAIE, M.; GOLL, D.E. 1995. Is Z-disk degradation responsible for *postmortem* tenderization? *Journal of Animal Science* 73(5): 1351-1367.
- TROY, D. 1994. Tenderizing beef (en línea). Consultado 19 ene. 1999. Disponible en: <http://exp.interspeed.net/flai/ffe11994.htm>
- UNIVERSITY OF ILLINOIS ANIMAL SCIENCES DEPARTMENT. 1999. Water in meat (en línea). Consultado 25 ene. de 1999. Disponible en: <http://www.ansci.uiuc.edu/meatscience/library/waterinmeat.htm>
- VANDERZANT, C.; SPITTSTOESSER, D.F. 1992. *Compendium of methods for the microbiological examination of food*. Washington, USA. Editorial APHA. 500 p.
- VÁZQUEZ, B. I.; CARREIRA, L.; FRANCO, C.; FENTE, C.; CEPEDA, A.; BARROS-VELÁZQUEZ, J. 2004. Shelf life extension of beef retail cuts subjected to an

- advanced vacuum skin packaging system. *European Food Research and Technology* 218(2): 118-122.
- VEISETH, E.; KOOHMARAIE, M. 2005. Beef tenderness: significance of the calpain proteolytic system. *In: Hocquette, J. F.; Gigli, S. ed. Indicators of milk and beef quality.* Roma. EAAP Publishing. 464 p.
- WHEELER, T.; KOOHMARAIE, M.; CROUSE, J. 1992. The effect of *postmortem* time of injection and freezing on the effectiveness of calcium chloride for improving beef tenderness. *Journal of Animal Science* (70): 3451-3457.
- WHEELER, T.; KOOHMARAIE, M.; LANDSDELL, J.; SIRAGUSA, G.; MILLER, M. 1993. Effects of *post-mortem* injection time. Injection level, and concentration of calcium chloride on beef quality traits. *Journal of Animal Science* (71): 2965-2974.
- WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M. 1992. Freezing and calcium chloride marination effects on beef tenderness and calpastatin activity. *Journal of Animal Science* 70(10): 3081-3085.
- WILLIAMS, E.J. 1959. *Regression analysis.* Londres, Inglaterra. Wiley. 300 p.
- WOODHOUSE, I. 1998. The tender issue of meat (en línea). Consultado 25 ene. 1999. Disponible en: <http://www-aghort.massey.ac.nz/departs/animsc/beef/angus/a9704.htm>