UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA FACULTAD DE VETERINARIA

ALTERNATIVAS TECNOLÓGICAS ANTE Y POST MORTEM PARA MEJORAR LA TERNEZA DE LA CARNE EN NOVILLOS HOLANDO

por

Federico CUADRO
Diego PRIETO



TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias Orientación Producción Animal e Higiene, Inspección, Control y Tecnología de los Alimentos de Origen Animal

Modalidad: Ensayo experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2012



PAGINA DE APROBACIÓN

TESIS DE GRADO aprob	pada por:
Considerts de masse	
Presidente de mesa:	Dr. Juan Imelio
Segundo miembro (Tutor):	Dr. Oscar Feed
Tercer miembro:	Dra. Stella Maris Huertas
Co Tutor	Dr. Juan Franco
Fecha:	7 de setiembre del 2012
Autores:	Federico Cuadro
	Diego Prieto

29638

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 11 (once)

Agradecimientos

- Un agradecimiento muy especial a nuestros tutores Dr. Oscar Feed y Dr. Juan Franco por el valioso aporte académico y el permanente apoyo brindado en esta instancia.
- Al Laboratorio de Calidad de Carnes de la Facultad de Agronomía (EEMAC), al frigorífico CLEDINOR S.A. planta Salto, y al Laboratorio Veterinario Oficial de Paysandú (Miguel C. Rubino), por permitirnos llevar a cabo el presente trabajo aportando el material experimental y la infraestructura necesaria para su correcta ejecución.
- Al Ing. Agr. Oscar Bentancur por su esencial aporte en el análisis estadístico
- Personal de Biblioteca de Facultad de Veterinaria y Agronomía por facilitarnos la obtención de materiales.
- A Facultad de Veterinaria ciclo básico, Orientación Producción Animal e Higiene, Inspección, Control y Tecnología de los Alimentos de Origen Animal por nuestra formación.
- A nuestras familias y amigos por su invalorable apoyo en todas las etapas de la vida.

Tabla de contenido

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	5
1. RESUMEN	6
2. SUMMARY	7
3. INTRODUCCIÓN	
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	10
4.1. Estructura Muscular	10
4.2. Conversión de Músculo en Carne	13
4.3. Acortamiento por Frío	
4.4. Maduración	15
4.5. Alternativas Tecnológicas	17
4.5.1. Ante mortem	
4.5.1.1. Administración de Vitamina D ₃	
4.5.2. Post mortem	25
4.5.2.1. Electro-Estimulación	25
4.5.2.2. Tendercut	31
5. OBJETIVOS	39
5.1. Objetivos Generales	39
5.2. Objetivos Específicos	39
6. HIPÓTESIS	39
7. MATERIALES Y MÉTODOS	40
8. RESULTADOS	42
8.1. Evaluación Instrumental	42
8.2. Evaluación Sensorial	45
9. DISCUSIÓN	47
9.1. Evaluación Instrumental	47
9.2. Evaluación Sensorial	52
9.2.1. Terneza	
9.2.2. Sabor	54
9.2.3. Aceptabilidad	55
10. CONCLUSIONES	56
11. BIBLIOGRAFÍA.	57

Lista de cuadros y figuras

CUADROS

Página
Cuadro N° 1. Efecto de los niveles de suplementación con Vit. D_3 sobre la fuerza de corte en
diferentes períodos de maduración19
Cuadro Nº 2. Efecto de la administración de Vit.D ₃ y sus interacciones sobre la terneza y sabor de la carne
Cuadro Nº 3. Efecto de la administración de Vit.D ₃ según los autores citados24
Cuadro Nº 4. Efecto de la EE según autores30
Cuadro Nº 5. Efecto de la administración de Vitamina D3, EE, y TC sobre la terneza y sabor de la
carne. Medias de Mínimos Cuadrados
Cuadro Nº 6. Efecto de la aplicación de alteración de colgado según los autores38
Cuadro Nº 7. Valores de F y niveles de significación de los efectos principales y sus interacciones, numerador y denominador de los grados de libertad sobre fuerza de corte, longitud de sarcómero, y pérdidas por cocción
Cuadro Nº 8. Influencia de la Vit.D ₃ sobre las pérdidas por cocción
Cuadro Nº 9. Valores de fuerza de corte para la interacción entre TC y diferentes días de maduración
Cuadro N°10. Grados de libertad, valores de χ^2 y niveles de significación de los efectos principales y sus interacciones sobre las notas del panel sensorial de consumidores45
Cuadro N° 11. Efectos de los tiempos de maduración, el método de colgado de la canal y la administración pre-faena de Vit. D_3 sobre las notas de panel sensorial de consumidores46
Cuadro Nº 12. Efecto de la técnica de TC y los tiempos de maduración de la carne en los valores de terneza asignados por el panel sensorial
FIGURAS
Figura 1. Esquema tridimensional de la organización micro-anatómica de un músculo estriado esquelético
Figura Nº 2. Ultra-estructura de la fibra muscular mostrando el diagrama de una unidad12
Figura Nº 3. Carcasa con aplicación de Tenderstretch32
Figura Nº 4. Tendercut. Se muestra el estiramiento muscular después del aserrado de la columna a
nivel de la 12/13 ^a vertebra torácica
Figura Nº 5. Comparación entre métodos de colgado y su influencia sobre la fuerza de
corte
Figura Nº 6. Comparación entre diferentes días de maduración y su efecto sobre la fuerza de corte.
Letras diferentes. 44

1. Resumen

Se estudió el efecto de la aplicación de alternativas tecnológicas *ante* (Vit.D₃ parenteral) y *post mortem* (tendercut como método de alteración de colgado y electro-estimulación de bajo voltaje) sobre la terneza instrumental y sensorial de la carne vacuna. Se utilizaron 32 novillos de la raza Holando con alimentación a pastoreo, de 460 ± 28,6 Kg, 2 años de edad y con espesor de grasa dorsal en la 10^a costilla de 4.2±2 mm. Las muestras fueron extraídas del músculo *Longissimus dorsi* y maduradas durante 2, 6 y 9 días. Instrumentalmente se evaluó pérdidas por cocción, longitud de sarcómero mediante un microscopio óptico con lente de inmersión de 100 aumentos, y fuerza de corte medida por cizalla Warner-Bratzler. La evaluación sensorial se realizó a través de un panel conformado por 180 consumidores de ambos sexos, que trabajaron en 18 sesiones (10 consumidores/sesión) de 1 hora de duración. El tendercut disminuyó (p<0.05) la fuerza de corte en la carne madurada por 2 (4.48 vs. 6.06 Kg) y 6 días (3.67 vs 4.62 Kg), pero no a los 9 días de maduración (3.39 vs. 4.07 Kg; p>0.05). Esta mejora en terneza instrumental, estuvo asociado a una mayor longitud de sarcómero (1.66 vs 2.0 μm, tratamiento testigo y con tendercut respectivamente), representando un incremento del 20,5%.

Para el resto de las alternativas tecnológicas aplicadas, no se vieron diferencias estadísticas en este parámetro, cuando se compararon con los controles. La utilización de Vitamina D₃ logró disminuir las pérdidas por cocinado, (29.78 vs 30.90 %; p<0.05) para muestras con y sin Vit.D₃ respectivamente.

A la evaluación sensorial se evidenció una mejora en la terneza cuando se utilizó Vit.D₃ parenteral, el método de tendercut y con los diferentes tiempos de maduración. Además la evaluación del panel corroboró la interacción detectada en la evaluación instrumental entre la utilización de tendercut y los tiempos de maduración. El uso del tendercut mejoró la terneza (p<0.01) en aquellas carnes maduradas por 2 (6.80 vs. 5.60 par tendercut y control respectivamente) y 6 días (7.20 vs. 6.61; tendercut y control respectivamente), pero no a los 9 días de maduración (7.50 vs. 7.17; p>0.05). La calidad del sabor se vio mejorada principalmente por el uso del tendercut (6.82 vs. 6.52; p<0.0001), por los días de maduración (6.46 vs. 6.70 vs. 6.85 para 2, 6 y 9 días respectivamente; p<0.0001), y en menor medida por la administración de vitamina D₃ (6.76 vs. 6.58 para tratado y control respectivamente; p<0.05).

De la misma forma que en el caso de la terneza la administración parenteral de Vit.D₃, el uso del tendercut y los tiempos de maduración, mejoraron las notas en aceptabilidad general de la carne.

Palabras clave: alternativas tecnológicas, novillo, calidad de la carne.

2. Summary

The effect of in vivo (vitamin D_3 administration) and postmortem techniques (carcass electrical stimulation and tendercut as an altered carcass hanging method) on instrumental and sensorial beef tenderness were studied. 32 Hereford Angus cross steers of 2 years of age and 460 ± 28.6 kg of live weight and 4.2 ± 2 mm of fat thickness at the 10^{th} rib were used. Longissimus dorsis samples were aged for 2, 6 and 9 days. Instrumental evaluations include cooking losses, shear force measured by a Warner-Bratzler desvice and sarcomere length with an optical microscope with immersion lens Sensory evaluation was performed using a 180 consumers panel of both sexes, who worked in 18 sessions (10 consumers/session) for 1 hour. Tendercut decreased (p <0.05) shear force in meat aged for 2 (4.48 vs. 6.6 kg) and 6 days (3.67 vs. 4.62 kg) but not at 9 days (3.39 vs. 4.7 kg; p> 0.05). This improvement in instrumental tenderness, was associated with an increased on sarcomere length (1.66 vs. 2.0 μ m, for control treatment and tendercut respectively), representing 20.5% of increase.

For the others technologies applied, no statistical difference was seen in this parameter, when compared with controls. Vitamin D_3 reduced cooking losses (29.78 vs. 30.90%, p <0.05) for samples with and without Vit. D_3 respectively.

In the sensory evaluation, a tenderness improvement was support by the used Vit.D₃, tendercut and ageing. Furthermore, the sensory evaluation confirmed the interaction detected in instrumental evaluation between the use of tendercut and aging. Tendercut improved tenderness (p <0.01) in meat aged for 2 (6.80 vs. 5.60 tendercut and control respectively) and 6 days (7.20 vs. 6.61; tendercut and control respectively) but not at 9 days of aging (7.50 vs. 7.17; p>0.05). Taste quality was improved mainly by the use of tendercut (6.82 vs. 6.52; p<0.0001), aging (6.46 vs. 6.70 vs. 6.85 for 2, 6 and 9 days respectively, p <0.0001), and in a lesser extent by vitamin D₃ administration (6.76 vs. 6.58 for treated and control respectively; p <0.05).

In the same way as in the case of tenderness, parenteral administration of Vit.D₃, the use of tendercut and aging, improved notes on overall acceptability of the meat.

Keywords: technological alternatives, beef, steers, meat quality.

3. Introducción

La carne es uno de los componentes principales de la dieta del ser humano por su alto contenido de proteínas de alta calidad, vitaminas y minerales. Dentro de los factores que estimulan al consumidor a comprar carne, los atributos de color y terneza son los más apreciados y buscados.

El color es uno de los principales atributos por los que el consumidor juzgará el producto a la hora de efectuar la compra (Pringle y col. 2000). Shackelford y col., citado por Barriada (1995) agregan, que el consumidor desecha aquellos colores extremos, y que aprecia los rojos brillantes. El color preferido de la carne es el rojo cereza brillante. La pigmentación de la carne está dada por la proporción de mioglobina en condiciones normales, ésta, se puede presentar en 3 formas básicas: Mioglobina reducida, Oximioglobina y Metamioglobina (Jiménez de Aréchaga y col. 2002).

Su concentración en el músculo varía entre especies y masa muscular, y en general se ve modificada por varios factores tales como: edad al sacrificio, sexo, nivel de estrés al sacrificio, etc., a la vez que está relacionada con el contenido de fibras rojas de la carne (Faustman, 1990).

Mientras que el color es importante para la decisión inicial de la compra, la terneza del producto determina la decisión de reiteración de compra.

En relación a esta última, Lawrie (1998), sostiene que la sensación de terneza se debe a la facilidad con que los dientes penetran en la carne, y la facilidad con que la carne se divide en fragmentos. Mamaqui (1996) y Sañudo (1998), consideran a la terneza como la facilidad de penetración, facilidad de fragmentación y cantidad de residuo que queda en la boca luego de la masticación.

La satisfacción en el consumo de carne vacuna resulta de la interacción de la terneza, jugosidad y el flavor (olor + sabor). Sin embargo, el inconveniente mayor en la insatisfacción del consumidor podría solucionarse cuando se resuelve el problema de la variación en la terneza (Koohmaraie, 1996). Dikeman y col. (1990) y Bickerstaffe (1996), mencionan a la terneza como un factor que incide directamente en la reiteración de compra del producto a nivel de los supermercados.

Otro aspecto a tener en cuenta, es que algunos consumidores están dispuestos a pagar un precio mayor por una terneza asegurada (Teira, 2004).

Según Sañudo (1992), aquellos factores relacionados al manejo de los animales en torno a la faena y el procesamiento post mortem de las carcasas, tienen un mayor impacto que los

factores inherentes al animal o de manejo.

Por otra parte, se menciona que el 40% de la variación de la terneza está definida a nivel del productor, mientras que el 60% restante lo es a nivel de la industria frigorífica (INIA, 2002).

Koohmaraie (1988), indica que el 85 % de la variación de la terneza se debe a alteraciones post mortem, a causas de procesos enzimáticos que llevan a cabo la tiernización de la carne.

En el Uruguay, para el año 2010 se exportaron 245702 toneladas de carne bovina, un 72 % de las exportaciones se concentró en 12 de las 38 plantas frigoríficas existentes. Para este mismo año del total de carnes refrigeradas se exportaron un 85,6% como carne congelada, mientras que tan solo un 14.4% se hizo de forma enfriada (INAC, 2010). Cabe destacar, que como se mencionó, la mayor variación de la terneza de la carne se da en el *post mortem* a nivel de la planta frigorífica, dado que en nuestro país un gran porcentaje de la faena se concentra en 12 plantas, sería más fácil implementar acciones para mejorar la terneza a este nivel, ya que a nivel del productor un plan de acción para mejorar esta característica, sería más complicado debido a lo heterogéneo de este rubro.

La carne que es sometida al proceso de congelación para su exportación, detiene la actividad proteolítica de las enzimas responsables del efecto de la mejora de la terneza (maduración). La industria para minimizar pérdidas económicas dado que el proceso de enfriado es caro, no realiza maduraciones óptimas, congelando la carne 48 a 60 horas postfaena. Esta carne congelada o aquella enfriada cuyo destino es el consumo inmediato (períodos cortos de maduración), para asegurar niveles aceptables de terneza, requeriría de una acelerada actividad proteolítica, así como evitar el "acortamiento por frío", lo cual solamente es posible mediante la utilización de alternativas post mortem (Simmons y col. 2006).

Otro factor a tener en cuenta, son los animales comercializados con una menor cobertura grasa, por lo tanto, son más susceptibles al efecto de velocidad de enfriado, lo que repercute negativamente en la calidad de la carne.

Es de destacar que en el Uruguay, se evidencia un aumento en la faena de vacas adultas. Para el año 2010, la faena de vacas representó el 52.5%, de las cuales el 78.5% eran animales de 6 y 8 dientes. De la misma forma, y a pesar de que en los últimos años se ha disminuido la edad de faena, los novillos de 6 y 8 dientes representaron el 55% de esta categoría faenada (INAC, 2010).

Dada las condiciones nacionales existentes en la actualidad (enfriado rápido y elevada edad de faena), existe una gran variabilidad en lo que refiere a características de calidad de carne, lo que conduce a una pérdida de valor agregado de los productos nacionales.

Las investigaciones, en los últimos años han intentado mejorar la terneza de la carne mediante diferentes alternativas tecnológicas (ante y post mortem) de fácil aplicación y sin; mayores costos a los productores e industria, haciendo especial hincapié en: suplementación oral o parenteral con Vit.D₃ (aplicable a nivel de productor), electro-estimulación, alteración del colgado (tenderstrech o tendercut). Sin embargo, no existen antecedentes que contemplen la aplicación conjunta de técnicas de fácil adopción en la cadena de producción, analizando especialmente períodos cortos de maduración. Dicha información sería aplicable particularmente a carnes del Uruguay, conforme su estructura de exportación.

4. Revisión Bibliográfica

4.1. Estructura muscular

"La carne es músculo estriado" (Bianchi y Feed, 2010), dicho músculo corresponde a un 40% del peso vivo de los animales productores de carne.

Cada órgano llamado músculo, contiene tejido muscular estriado como su mayor componente. Las células de dicho tejido, se denominan fibras musculares y están organizadas en haces rodeados por septos de tejido conectivo. Como se observa en la Figura Nº 1, el músculo está rodeado en su superficie por una capa de tejido conjuntivo denso, denominada **epimisio**. De la cara interna del epimisio, surgen una serie de tabiques constituidos mayormente también por tejido conjuntivo, que dividen al músculo en grandes grupos de fibra, llamadas haces musculares o fascículos. Estos tabiques se denominan en su conjunto **perimisio**. Finalmente, cada célula muscular está rodeada por una delicada lámina de tejido conjuntivo, compuesto mayormente por tejido conjuntivo laxo, pero también con componentes de tejido conjuntivo denso. Estas láminas se denominan en su conjunto **endomisio**. En términos generales, cuando el músculo tenga una mayor proporción de endomisio y mayor tamaño de las haces fibrilares, esta carne tendrá una textura más basta, y como consecuencia una carne menos tierna y más dura a la masticación (Forrest, 1979).

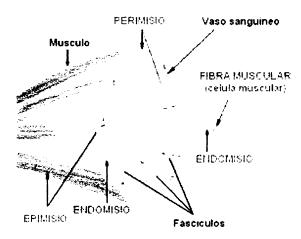


Figura 1. Esquema tridimensional de la organización micro-anatómica de un músculo estriado esquelético.

(Fuente: http://actdeea.blogspot.com/2010_01_01_archive.html)

La mayor parte del citoplasma de la fibra muscular (sarcoplasma), está ocupado por un conjunto de **miofibrillas** dispuestas longitudinalmente, que corren toda la longitud de la célula. Las miofibrillas contienen los filamentos musculares (**miofilamentos**), estos son los que llevan a cabo la contracción muscular.

Las estriaciones longitudinales, se debe a la orientación paralela de gran cantidad de células musculares alargadas. Mientras que la estriación transversal se debe a la distribución alterna de gran cantidad de bandas oscuras (bandas A) y bandas claras (bandas I). A su vez, cada banda A está bisecada por una zona H, y cada banda I por una línea Z (figura 2).

Cada miofribrilla es una larga estructura cilíndrica constituida por un haz de filamentos paralelos entre sí. Hay dos tipos de filamentos: gruesos y finos. Los filamentos gruesos están compuestos por la proteína **miosina**, los filamentos finos están compuestos mayoritariamente por la proteína **actina**, y en cantidades menores por las proteínas **troponina** y **tropomiosina**.

Para el mejor estudio de las ultra-estructuras de las miofibrillas, se las subdivide en sarcómeros. Cada miofibrilla está compuesta por miles de sarcómeros dispuestos unos tras otros. Como se puede observar en la figura Nº2, cada sarcómero se extiende entre dos líneas Z, por lo tanto éste, está constituido por media banda I, una banda A entera y otra media banda I.

La banda A es la porción del sarcómero en que se encuentran los filamentos gruesos y finos. Mientras que la banda I es la porción del sarcómero que se encuentran sólo los filamentos finos. La zona H es la porción del sarcómero que sólo tiene filamentos gruesos. Los filamentos gruesos y finos se interdigitan parcialmente entre sí, y el grado de ésta, está vinculado a la contracción muscular. Cuanto más interdigitados, más corto el sarcómero y más contraído está el músculo.

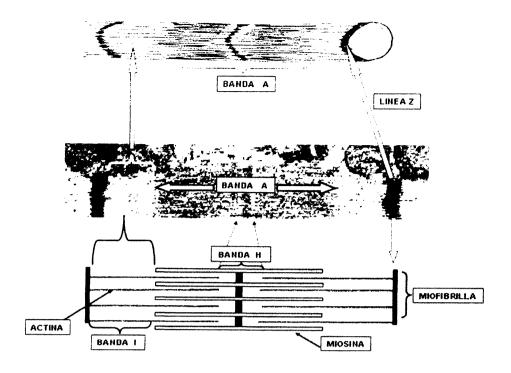


Figura Nº 2. Ultra-estructura de la fibra muscular mostrando el diagrama de una unidad contráctil (sarcómero).

(Fuente: Bianchi y Feed, 2010)

Durante el acortamiento del sarcómero, las líneas Z se acercan, el ancho de las bandas I y H disminuyen, pero la banda A no cambia en absoluto su ancho. De la misma manera, cuando un músculo se estira, el ancho de las bandas I y las zonas H aumentan pero no cambia en ancho de la banda A.

El ión Ca⁺⁺ es el mensajero que trasmite la información entre los potenciales de acción (que recorren el sarcolema de la fibra muscular excitada), y las estructuras que permiten la contracción dentro de la célula. Cuando ocurre una excitación de la fibra muscular, un potencial de acción recorre el sarcolema. Esta membrana plasmática tiene distribuidos a lo largo de toda su superficie, una serie de delgadas y profundas invaginaciones llamadas túbulos T. Estos túbulos están en contacto directo con el retículo sarcoplásmico. Este retículo, está constituido por cisternas. Cada túbulo T está rodeado por dos cisternas, una a cada lado, por lo que estos tres elementos (cisternas y túbulos T), constituyen una tríada. Cuando un potencial de acción llega a un túbulo T, se extiende a lo largo de éste, y provoca la liberación de Ca⁺⁺ por parte de las cisternas que rodean al túbulo. El Ca⁺⁺ liberado difunde entre los filamentos finos y gruesos y desencadena la contracción del sarcómero. Cuando este proceso termina, el Ca⁺⁺ es bombeado de vuelta a las cisternas del retículo sarcoplásmico utilizando una Ca⁺⁺ ATPasa.

4.2. Conversión de músculo en carne

Las principales modificaciones que sufre el músculo con posterioridad al sacrificio y que lo transforman en carne, son el *rigor mortis* y la maduración.

En el momento de producirse la muerte del animal, los diferentes tejidos continúan su actividad metabólica bajo control local (producción de ATP a nivel muscular). El músculo sigue contrayéndose aunque no de una forma activa, consumiendo energía para mantener la temperatura y la integridad estructural de sus células frente a la espontánea tendencia a la degradación; es decir, suceden sucesivas ondas de despolarización y repolarización, este fenómeno se lo conoce como *pre rigor* o irritabilidad (Lawrie, 1998).

Mediante la oxidación aeróbica la glucosa es completamente oxidada a CO₂, pero en este momento, debido al desangrado del animal, la falta de aporte de oxígeno al músculo es inminente, por lo tanto los sistemas enzimáticos a base de oxígeno son incapaces de actuar, imposibilitando la resíntesis de ATP haciendo que disminuya su nivel. De este modo, se activa la glucólisis anaeróbica, proceso que constituye un mecanismo de obtención rápida de ATP en condiciones de anaerobiosis, utilizando las reservas de glucógeno muscular con la finalidad de suplir este déficit. Éste mecanismo, produce además acido láctico con el consiguiente descenso del pH muscular post mortem. Este proceso depende fundamentalmente de la cantidad de glucógeno presente en los tejidos (Price, 1994). Sin embargo, el metabolismo anaeróbico es incapaz de mantener niveles normales de ATP. De este modo a medida que avanza la glucólisis post mortem, el músculo se hace inextensible, esto se trata de un endurecimiento llamado rigor mortis. Erdös (1943) citado por Lawrie (1998), demostró que la aparición del rigor mortis, estaba relacionado con la desaparición del ATP muscular. En ausencia de ATP, la actina y la miosina se combinan formando cadenas rígidas de actomiosina.

El tiempo de instalación del *rigor mortis* depende de la temperatura, reserva de glucógeno, y los niveles de ATP y creatinfosfato (CP). Cuanto mayor sea el contenido de glucógeno y CP al momento de la faena, más tarde aparece el *rigor mortis* y viceversa. También se cita a la temperatura como un factor que influye en la instalación del *rigor mortis*, ya que la glucólisis y las consecuencias que esta trae, ocurre más lentamente cuando la temperatura es baja. Si el músculo es congelado antes que aparezca el *rigor mortis* interrumpiendo los procesos bioquímicos, éstos, aparecerán nuevamente a la descongelación (Lawrie, 1998).

El rigor mortis va desapareciendo gradualmente a medida que avanza la maduración (Price, 1994). Ésta, está relacionada con el ablandamiento de las masas musculares y resulta de las alteraciones causadas por la degradación de la ultra-estructura de las fibras musculares. Hasta este momento, dos fenómenos son de extrema importancia en la transformación de músculo en carne: el descenso del pH muscular y la resolución del rigor mortis. Desde el punto de vista tecnológico, se considera carne a el músculo que haya pasado por el rigor

mortis.

El valor final del pH de la carne, influye en la conservación y en propiedades tecnológicas de la misma. Una acidificación adecuada corresponde a valores de pH de entre 5.4-5.8. Valores de pH superiores a éste intervalo, pueden comprometer la conservación de la carne, disminuir su capacidad de retención de agua (Price, 1994), y provocar cortes oscuros o carne DFD (dark, firm, dry) (Lawrie, 1998). Además del valor final de pH, también es importante la velocidad de caída del mismo. Cuando ésta es muy rápida después de la muerte del animal, aparece lo que se conoce como carne PSE (pale-soft-exudative). También un inadecuado enfriamiento de las carcasas antes de que se instale el *rigor mortis*, puede causar el fenómeno conocido como acortamiento por frío (Price, 1994).

4.3. Acortamiento por frío

El acortamiento por frío (cold shortening), ha sido descrito como un rápido descenso de la temperatura de la canal a menos de 10°C cuando el pH aún se encuentra con valores superiores a 6 (Bianchi y Feed, 2010). En estas condiciones, hay una mayor disminución en la longitud de los sarcómeros. Esta contracción viene acompañada por una mayor pérdida de jugos cárnicos y endurecimiento. Dicha carne cuando se cocina, se presenta extremadamente dura.

Locker y Hagyard (1963), estudiaron el acortamiento del *M. sternomandibularis* a temperaturas constantes en un rango de 2-37°C. Estos autores encontraron que el mínimo acortamiento del músculo se daría a temperaturas de 14 a 19°C. A temperaturas más bajas el acortamiento por frío se incrementa notablemente.

En el año 2006 White y col., estudiando el efecto del acortamiento por frío, sumergió el músculo L. dorsi inmediatamente después del sacrificio en agua a 5 y 15°C por 8 horas, y posterior almacenamiento a 2° C por 21 días. Este autor, reportó que los músculos enfriados a 5° C, efectivamente sufrieron acortamiento por frío, dando como resultado sarcómeros más cortos. También se observó mayor fuerza de corte hasta el día 14 post mortem, esto es coincidente con lo expuesto por Herring y col. (1967), donde menciona que los músculos acortados no tenían una terneza aceptable incluso después de 10 días de maduración, a su vez esto fue más evidente en animales más viejos. A pesar del riesgo del acortamiento por frío, el enfriado rápido de las carcasas es aplicado para aumentar la capacidad de refrigeración, reduciendo pérdidas de peso y mejorando las condiciones microbiológicas de las carcasas (James y James, 1986).

Dicho acortamiento, está relacionado con una elevada liberación de Ca⁺⁺ al sarcoplasma, o a fallas en el funcionamiento de la bomba de Ca⁺⁺ del retículo sarcoplásmico estimulado por el frío excesivo, impidiendo que el retículo, retire el calcio del sarcoplasma. La forma más usual de evitar este proceso es controlando la temperatura de enfriamiento de las carcasas, de modo tal, que la carne alcance temperatura igual o inferior a 10°C dentro de las primeras 10 hs. post faena. Este problema adquiere mayor seriedad cuando se trabaja con animales de

menor cobertura grasa, ya que ésta, actúa como un medio aislante disminuyendo la velocidad de transferencia de calor (Teira, 2004).

El acortamiento por frio, también se puede evitar mediante la electro-estimulación (EE) de las canales. Esta técnica, acelera la instauración del *rigor mortis*, y el pH desciende rápidamente.

Otro método para evitar que dicho fenómeno suceda, es la aplicación de alteraciones del colgado conocidas como "Tenderstrech" (TS) y "Tendercut" (TC). Estas técnicas previenen tal fenómeno al aumentar la tensión ejercida sobre cierto grupo de músculos (Bianchi y Feed, 2010).

4.4. Maduración

La maduración es el último proceso de transformación de músculo en carne (Monsón, 2004). De esta forma, la dureza de la carne va disminuyendo durante el transcurso de este proceso. El endurecimiento que experimenta la carne durante la aparición del *rigor mortis*, desaparece gradualmente a medida que aumenta el tiempo de maduración (Lawrie, 1998), en este sentido toda la bibliografía relacionada es coincidente en que independientemente de la raza, peso, sexo, alimentación, etc., a medida que el tiempo de maduración avanza, la terneza de la carne mejora.

Con respecto al efecto de la maduración sobre la textura en situaciones de acortamiento de la carne en etapa de *pre-rigor* ocurrido en casos de refrigeración a temperaturas bajas y en corto tiempo, la bibliografía muestran resultados contradictorios. Davey y col. (1967) y Locker y col. (1975), no encontraron resultados positivos, sugiriendo que el acortamiento de los sarcómeros podría reducir el acceso a las proteínas susceptibles de ser degradadas por la acción enzimática, y por lo tanto inhibir el efecto positivo en la terneza. Sin embargo Young y col., (1980) y Jaime y col., (1992) concluyeron que la tasa de mejora en la terneza debido a la maduración, resulta independiente del acortamiento sufrido por el músculo.

Paerson citado por Price (1994), menciona que algunas de las características deseables de la carne (disminución de la terneza y probablemente la mejora del flavor) aumentan si la canal, media res, o cortes de carne, son mantenidos a temperaturas justo por encima de la congelación (0-5C°) durante períodos de tiempo desde unos pocos días hasta muchas semanas.

Nishimura, y col. (1998), sugiere que el período de maduración para maximizar sus beneficios sobre la terneza, debe ser de 10-14 días bajo temperaturas de refrigeración, siendo la primera semana donde los resultados son más evidentes.

Mecanismo de acción

La maduración consiste en una serie de transformaciones bioquímicas, que afectan a la estructura del músculo, dando como resultado una carne más tierna (Bianchi y col. 2006).

En la presentación de estos cambios intervienen varias enzimas, entre las que encontramos Catepsinas, Factor Activado por el Calcio (CAF) y otras proteasas (Price, 1994).

El CAF, se le denomina al sistema calpaínico, éste, es un grupo de proteasas formado principalmente por dos enzimas llamadas μ -calpaína y m-calpaína, y la calpastatina que es su inhibidor competitivo (Goll y col. 2003).

Estas enzimas, se sitúan en el sarcoplasma siendo activadas a diferentes concentraciones de Ca⁺⁺ en músculo (μ-calpaína necesita de 5 a 50 μM de Ca⁺⁺, m-calpaína necesita entre 300 a 1000 μM de dicho ión), y a pH generalmente entre 7-7.5 (Boehm y col. 1998). Tras la muerte del animal, en el músculo hay suficiente Ca⁺⁺ como para activar toda la μ-calpaína y solo el 30% de m-calpaína (Monsón, 2004), siendo esta, una de las causas que ha llevado a considerar a la μ-calpaína como la máxima responsable de los procesos de tiernización. Estas dos enzimas no actúan directamente sobre la miosina y actina, pero degradan la línea Z y las proteínas desmina, titina (liga los filamentos de miosina en el sentido longitudinal de la miofibrilla), nebulina (responsble de las uniones transversales en la banda I de los sarcómeros), tropomiosina, troponina y proteína C (Goll y col. 1992).

Las calpastatinas tienen la propiedad de inhibir las calpaínas e influir directamente en la terneza de la carne. Sin embargo, ha sido demostrado que la calpastatina es degradada por la calpaína, esto es considerado como parte del proceso regulatorio del sistema proteolítico (Geesink y Koohmaraie, 1999).

Koohmaraie (1994), señaló que animales con elevada actividad de la calpastatina, usualmente producen carnes menos tiernas a pesar de un período de maduración extenso. Un ejemplo de esto, sería el caso de los animales *Bos indicus*. Estos animales presentan una menor terneza, atribuible a la elevada actividad calpastatínica presente en estas razas (INIA, 2002).

Las catepsinas, son enzimas endógenas del músculo y se encuentran en los lisosomas de las células. Estas enzimas, son capaces de degradar la miosina, actina, el complejo troponina (Monsón, 2004), las proteínas que forman las líneas Z y las bandas I, mientras que las bandas A son bastante resistente (Young y col. 1980). El pH óptimo para las catepsinas es 5.2; cuando el pH es de 5.6 la actividad es del 50% y a pH 6.0, es solo del 20% (Monsón, 2004). Aunque la acción de las enzimas lisosomales parecería provocar una gran alteración de la estructura miofibrilar, es la acción conjunta con las calpaínas la que actúa en los procesos de maduración de la carne (Taylor y col. 1995).

Existe un tercer grupo de enzimas que está representado por el complejo de las proteasas multicatalíticas (CPM), que también han sido propuestas como responsables del ablandamiento de la carne (Orlowski, 1990), sin embargo, existe poca información que implique fuertemente a las CPM como responsables de la proteólisis post mortem (Robert y col., 1999).

4.5. Alternativas tecnológicas

4.5.1. Ante-mortem

4.5.1.1. Administración de Vitamina D₃

La vitamina D₃ participa en el metabolismo del calcio y fósforo. Los órganos diana sobre la que actúa esta vitamina son, intestinos, huesos, riñón e incluso los músculos (de Boland y Nemere, 1992). La vitamina D₃ se clasifica como una secosteroide, requiriendo una conversión para tener su total actividad biológica (DeLuca, 1979). Dicha vitamina es producida por el organismo debido la acción de los rayos UV, formando 7-dhidrocolesterol o se obtiene a partir del alimento. Una vez absorbida, es hidrolizada en el hígado a 25-hidroxivitamina D₃. Este metabolito llega al riñón, donde por acción de la 1α-hidroxilasa se convierte a 1.25-dihidrovitamina D₃ (Reichel y col., 1989), teniendo éste, 500 a 1000 veces mayor actividad biológica que su precursor (25-hidroxivitamina D₃). Este proceso de conversión de la vitamina D₃, lleva aproximadamente de 3 a 5 días.

La vitamina D₃ actúa sobre el intestino y riñón, incrementando los niveles de calcio en sangre (absorción y retención), este incremento de calcio sérico, entre otras cosas, aumenta el nivel de la actividad enzimática endógena de las fibras musculares durante la maduración (Teira, 2004).

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, en los últimos años se ha intentado mejorar la terneza de la carne mediante tratamientos *ante mortem* con la administración oral y parenteral de Vit.D₃, y *post mortem* mediante infusión de Ca⁺⁺ al los diferentes cortes cárnicos.

En este sentido, Koohmaraie y col. (1988), mediante el método denominado CAT (calcium-activated tiernization), que consiste en someter a la carne a una infusión de CaCl₂ al 2.2 % pre *rigor mortis*, intentó mejorar la terneza de la carne, a través de la activación de las calpaínas. El CaCl₂ exógeno evidentemente activa la proteasas intracelulares dependientes del Ca⁺⁺, μ-calpaina y m-calpaina (Goll y col., 1992) que son responsable de la tiernización de la carne por la aceleración de la proteólisis *post mortem*. Sin embargo algunos trabajos han documentado cierto sabor metálico en la carne debido a la utilización de esta técnica (Bianchi y Feed, 2010).

Suplementación oral

La suplementación oral de Vit.D₃, aumentó el calcio en sangre a través de la acción adicional de la 1.25-dihidroxivitamina D₃ (Horst y col., 1981). Toury y col. (1990), demostró que la suplementación de Vit.D₃ en ratas, aumentó el calcio ligado a la línea Z, e incrementa el Ca⁺⁺ citosólico del músculo esquelético.

Los primeros estudios con Vit.D₃ en el ganado, indicaron que la suplementación oral a niveles bajos como 1 x 10⁶ UI/día, incrementan la concentración sérica de Ca⁺⁺ y P, y

disminuyen la incidencia de la fiebre de la leche (Hipocalcemia post-parto) en vacas lecheras (Hibbs y col., 1946; Hibbs y col., 1951, Hibbs y Pounden 1955).

Swanek y col. (1999), y Montgomery y col. (2000), fueron unos de los primeros en evaluar la acción de la suplementación oral de Vit.D₃, para mejorar la terneza de la carne de novillos de feed-lot. Ambos trabajando con niveles de suplementación similares (5 y 7.5x10⁶ UI Vit.D₃), lograron el mismo efecto en lo que refiere al aumento de Ca⁺⁺ sérico 5 días después de comenzado el tratamiento. Sin embargo, cuando se evaluó la terneza instrumental y sensorial, los resultados fueron heterogéneos. El primero de los autores, encontró que la fuerza de corte disminuyó para ambos niveles de suplementación a los 7 días de maduración (5.30 vs. 4.21 Kg/cm² para 7.5x10⁶ UI y 4.70 vs. 4.12 Kg/cm² para 5 x10⁶ UI; p<0.05), y a la evaluación sensorial mejoró significativamente las puntuaciones de terneza, jugosidad y sabor. Los resultados obtenidos por Montgomery, difieren a los anteriores, ya que las muestras maduradas por 14 días, fueron las únicas donde se vio una mejora significativa en la terneza instrumental (3.25 vs. 2.8 vs. 2.78 Kg/cm² para los control y suplementados con 5 y 7.5 x10⁶ UI de Vit.D₃ respectivamente), y a la evaluación sensorial no se encontró diferencia para los atributos evaluados independientemente de los niveles de suplementación.

Rider Sell y col. (2004), utilizó niveles de suplementación similares a los citados anteriormente, pero en vacas de descarte cruza Angus. Para las muestras maduradas por 2 días, no se encontró efecto de la suplementación con Vit.D₃ para ninguna de las dosis utilizadas. Después de 7 días de maduración, las muestras procedentes de las vacas suplementadas con 7.5×10^6 UI de Vit.D₃, tenían valores de fuerza de corte menores que las suplementadas con 5×10^6 UI Vit.D₃ y control (3.66 vs. 6.69 vs. 5.30 Kg/cm² para 7.5, 5×10^6 UI y control respectivamente). Cabe destacar que los valores para los controles y para los suplementados con 5×10^6 UI, no difieren estadísticamente (p>0.05). A la evaluación sensorial, la suplementación con Vit.D₃ no tuvo efectos estadísticamente significativos sobre jugosidad, terneza, intensidad de sabor, tejido conectivo y mal sabor.

Karges y col. (2001), llevó a cabo una investigación para determinar los efectos de suplementación oral de Vit.D₃. Los tratamientos se dividieron en tres grupos: control, suplementación con $6x10^6$ UI de Vit.D₃ durante 4 días y la misma suplementación durante 6 días previo a la faena. Todas las muestras fueron maduradas 7, 14 y 21 días. La suplementación de los novillos durante 4 días, solamente disminuyó la fuerza de corte (p \Box 0.05) para las muestras maduradas durante 14 días (4.12 vs. 3.79 Kg/cm²). Para los animales que fueron suplementados por 6 días, se observó una disminución en la fuerza de corte en las muestras maduradas durante 7 días (4.19 control vs. 3.75 Kg/cm² tratamiento) y 14 días (4.12 control vs. 3.58 Kg/cm² tratamiento), en este estudio también se encontró que la administración de Vit.D₃ aumenta la capacidad de retención de agua (CRA) de las muestras. En lo que respecta a los atributos sensoriales, estos estadísticamente no se vieron afectados por la suplementación con Vit.D₃.

Montgomery y col. (2002), administró Vit.D₃ en la ración a animales de feed-lot, durante 9

días previos a la faena, a razón de 0, 0.5, 1, 2.5, 5 y 7.5 x 10⁶ UI/d. La fuerza de corte para las muestras procedentes de *L. dorsi* en los tratamientos de novillos suplementados con 0.5 y 7.5 x 10⁶ UI de Vit.D₃ y con un tiempo de maduración de 7 días, disminuyó en comparación con los controles (2.8 vs 2.22 Kg/cm² para los suplementados con 0.5 x 10⁶ UI Vit.D₃ y 2.8 vs 2.31 Kg/cm² suplementados con 7.5 x10⁶ UI Vit.D₃). Estas mismas muestras con 10, 14 y 21 días de maduración no se vieron afectadas por la suplementación de Vit.D₃.

En este trabajo también se señala, que la suplementación con Vit.D₃, tiene su mayor efecto sobre carnes más duras (por ejemplo, semimembranoso), lo que sugiere que esta tecnología tendría mejor resultado en este tipo de carnes.

Montgomery y col. (2004), suplementó novillos continentales, británicos e índicos por 8 días previos a la faena con 0, 0.5, 1.0 y 5.0 x 10^6 UI de Vit.D₃ y evaluó su efecto en la terneza para diferentes días de maduración. Como se observa en el cuadro Nº 1, suplementar los novillos con 0.5, 1 y 5 x 10^6 , redujo la fuerza de corte para el músculo *L. dorsi* madurado durante 7, 10, 14 y 21 días en comparación con los controles. El músculo *L. dorsi* madurado durante 3 días, solo redujo la fuerza de corte en las muestras tratadas con 1 y 5 x 10^6 UI de Vit.D₃

Cuadro Nº 1. Efecto de los niveles de suplementación con Vit.D₃ sobre la fuerza de corte (Kg/cm²) en diferentes períodos de maduración.

	Tratami			
Maduración en días	0.0	0.5	1.0	5.0
3	5.52°	5.15 ^{cd}	4.76 ^d	4.76 ^d
7	5.49°	4.48 ^d	4.75 ^d	4.54 ^d
10	4.93°	4.34 ^d	4.17 ^d	4.32 ^d
14	5.02°	4.04 ^d	3.99 ^d	4.21 ^d
21	5.02°	4.27 ^d	4.19 ^d	4.17 ^d

Diferentes letras dentro de una sola fila difieren (p<0.05)

(Fuente: Montgomery y col., 2004)

A la evaluación sensorial, para todos los niveles de suplementación, sólo se detectó una interacción positiva ($p \square 0.05$) para la variable terneza, mientras que en las restantes variables (jugosidad, cantidad de tejido conectivo, flavor, mal sabor y sensación en la boca), no se encontró diferencia significativa.

El uso del clorhidrato de zilpaterol como promotor de crecimiento en la alimentación de animales de engorde, tiene un efecto indeseado sobre la terneza de la carne. En tal sentido Strydom y col. (2011), estudió como minimizar este efecto mediante la administración de Vit.D₃ oral, EE y la interacción entre ambas en novillos Bonsmara. Como resultado, obtuvo

que la administración de altas concentraciones de Vit. D_3 durante pocos días $(7.0x10^6 \text{ UI/ }3 \text{ días})$, y bajas concentraciones de Vit. D_3 durante varios días $(1x10^6 \text{ UI/ }9 \text{ días})$, fueron los que dieron mejores resultados en cuanto a terneza instrumental bajo condiciones de no EE, pero los animales controles a los que no se les aplicó ningún tipo de tratamiento (no zilpaterol y no Vit. D_3), son los más tiernos. Cuando los animales son tratados con Zilpaterol, la EE da mejores resultados que la administración de Vit. D_3 .

La EE, reduce la variación entre las medias de los animales tratados con Zilpaterol, sin embargo, los controles todavía tienen una ventaja significativa sobre los tratamientos, incluso después de 14 días de maduración. Por lo que se concluye que la EE es efectiva para tratar carnes de por sí más duras, esto confirma lo expuesto por Cross (1979), que dice que la EE es efectiva cuando es aplicada a carcasas que producen carnes menos tiernas.

Sin embargo, otros autores no encontraron resultados positivos a la suplementación con Vit.D₃ oral.

Hill y col., (1999), concluyó que altos niveles de Vit.D₃ en períodos cortos de administración, no es un método eficaz para mejorar la terneza de la carne, dado que al suplementar novillos con 7.5 x10⁶ UI de Vit.D₃ durante 10 días antes de la faena, éstos, presentaron disminución en la fuerza de corte a pesar de encontrar un aumento de la concentración de Ca⁺⁺ muscular.

En el caso de Scanga y col. (2001), utilizó vaquillonas Charolais×Hereford, y encontró que la administración de Vit.D₃ oral a diferentes dosis (1, 2, 3, 4, 5x10⁶ UI y 2, 4x10⁶ UI + 75gr. CaCO₃), repercutió positivamente sobre el aumento de Ca⁺⁺ sérico y muscular. Pero independientemente del aumento en la concentración de Ca⁺⁺, éste, no influyó en la fuerza de corte de las muestras de los diferentes tratamientos (Vit.D₃ y maduración 2, 7, 14, y 21 días). Contrario a lo que se pensó, la suplementación con un plus de CaCO₃, redujo las concentraciones de Ca⁺⁺ plasmático. Esto puede estar explicado debido a que la administración de Ca⁺⁺ antes del sacrificio, inhibe la síntesis y acción de la Vit.D₃, y por lo tanto la absorción de Ca⁺⁺. Estos resultados, coinciden con los encontrados por Rentfrow y col. (2001), que suplementando vaquillonas con altos niveles de Vit.D₃ o una mezcla de Vit.D₃ y E, si bien obtuvo una elevada concentración de Ca⁺⁺ sérico, ésto, no se vio reflejado en una reducción en la fuerza de corte.

De Moura, (2002), al trabajar con diferentes concentraciones de Vit.D₃ oral (0, 3, 6 y 9 x 10⁶ UI/ animal/día) en novillos raza Nelore durante 10 días, observó un aumento de Ca⁺⁺ sérico que no fue significativo, además encontró que no hubo efecto de la administración de Vit.D₃ en la fuerza de corte para ninguno de sus niveles de suplementación, esto es diferente para la maduración en sus diferentes días, ya que si se encontró un efecto positivo sobre los valores de fuerza de corte. Este autor, relaciona la falta de respuesta en la terneza instrumental, debido a que el aumento de Ca⁺⁺ sérico no fue lo suficiente. Sin embargo, contrariamente a lo que se esperaría, a la evaluación sensorial, los resultados obtenidos para terneza, muestran que cuando se administró 3 x 10⁶ UI/animal/día se obtuvieron los mejores

resultados, mientras que cuando se administró 9 x 10⁶ UI/animal/día se obtuvo los peores resultados.

Efectos secundarios de la administración de Vit.D₃ oral

La alimentación con altas dosis de Vit.D₃, puede causar toxicidad en el ganado vacuno, dependiendo no solo de la dosis, sino que también de la duración de la suplementación. La toxicidad se manifiesta dando una hipercalcemia prolongada, pérdida de peso, pérdida de apetito, disminución de la ingesta, e inclusive la muerte (Littledike y Horst, 1982; Mortensen y col., 1993).

Puls (1994) citado por Montgomery y col.(2002), coincidiendo con los autores anteriores, sugirió que la suplementación del ganado con 1 a 2 x 10⁶ UI/animal/día de Vit.D₃, puede resultar tóxico. Teniendo en cuenta lo ante dicho, Montgomery y col. (2002), reportó que la suplementación oral con 2.5, 5 y 7.5 x 10⁶ UI/animal/día de Vit.D₃, disminuyó el consumo diario de los animales durante el día 7 y 8 del tratamiento. En el año 2004, este mismo autor, utilizando diferentes concentraciones de Vit.D₃ durante 8 días previos a la faena en novillos Británicos, Continentales y *Bos indicus*, obtuvo resultados similares en cuanto a la disminución de consumo y ganancia diaria cuando se utilizó niveles superiores a 1x10⁶ UI de Vit.D₃.

Montgomery y col., (2000) Montgomery y col., (2002), Montgomery y col., (2004), evidenciaron que la suplementación con Vit.D₃ aumenta los residuos de ésta en tejidos cuando se suplementa con 5x10⁶ UI/día/animal o más, por lo tanto los riñones de todos los animales que hayan recibido suplementación con Vit.D₃, deberían ser eliminados y no ir al mercado para consumo humano debido al potencial peligro toxicológico que estos representan.

En estos experimentos, también se pone en evidencia que la suplementación con niveles bajos de Vit.D₃ (0.5x10⁶ UI/anim./día), no solo mejora la terneza de la carne, así como tampoco afecta negativamente la performance de animales de feed-lot, ni deja residuos potencialmente tóxicos en los tejidos.

Otros métodos de administración

Como se ha mencionado, la suplementación oral de Vit.D₃ produce una disminución del consumo de alimento, ganancia diaria y potenciales efectos tóxicos cuando es administrado en altas dosis, sumado a todo esto, dificultades en la instrumentación práctica grupal debido a no tener un buen control del consumo individual de los animales, se ha buscado vías alternativas de administración para esta vitamina.

Un ejemplo de lo mencionado anteriormente es Duckett y col., (2001). Este autor estudió el efecto de la administración de 1.5 L. de Ca⁺⁺ en gel (150gs. Ca, 630g de propionato de Ca⁺⁺ y 600g de propilene-glicol) intraruminal, 3 a 6 hs. antes de la faena. La administración

de este gel incrementó los niveles de Ca⁺⁺ muscular y la actividad calpaínica, traduciéndose en una mejora en los valores de fuerza de corte entre 14 y 18% a los 4 y 7 días de maduración respectivamente. Se evidenció una tiernización más rápida en el *post mortem*, ya que a mayores días de maduración (14, 21 y 28), no hubo diferencia significativa en comparación con los controles. Las muestras procedentes de los animales tratados, tuvieron mejores valoraciones para terneza sensorial (p<0.05).

Buscando una alternativa más práctica que las técnicas citadas anteriormente, la investigación nacional se centró en la administración parenteral de Vit.D₃ y sus posibles efectos.

La administración de Vit.D₃ bajo esta forma, permitiría: 1) evitar la inactivación de la Vit.D₃ a nivel ruminal (Horst y col., 1983), 2) una mayor exactitud en la dosificación individual, y 3) una fácil adopción de la técnica a nivel productivo.

Feed y col., (2002b), demostró que la administración parenteral de Vit.D₃ aumenta un 8,9% los valores de Ca⁺⁺ sérico en vacas Hereford a pastoreo 15 días post inyección, cuando se administra una única dosis de 10x10⁶ UI de Vit.D₃.

Teniendo en cuenta lo anterior, Feed y col. (2002a), administró por vía parenteral $10x10^6$ UI de Vit.D₃ 8 días previos al sacrificio y encontró que en relación a la fuerza de corte, no hubo diferencia significativa entre tratamiento a los 3 días de maduración, mientras que a los 7 días, las vacas tratadas mostraron una menor fuerza de corte con respecto al control (4.05 vs. 4.55 kg/cm² tratamiento y control respectivamente; p<0.05).

Teniendo como base el trabajo anterior, Franco y col. (2007), evaluó el efecto del "Tendercut" (TC), Vit.D₃ y maduración, sobre la textura y calidad de la carne de novillos Holando. En dicho trabajo se evaluó el efecto de la técnica de tendercut sobre dos tiempos de maduración 3, 7 días (Experimento Nº1), y su interacción con la administración parenteral de 8 x10⁶ UI de Vit.D₃ 15 días previos a la faena (Experimento N° 2), estas muestras fueron maduradas durante 7 días. Los resultados de experimento Nº 1 se describirán en el capítulo de tendercut; en lo que respecta al Experimento Nº 2, los valores de fuerza de corte, no evidenció efecto de ningún tratamiento ni interacción entre ellos, la textura promedio para todas las muestras fue $4.90\pm0.46 \text{ Kg/cm}^2$ (p $\square 0.05$). En la evaluación sensorial, la interacción de los tratamientos solo resultó significativo para terneza (7.1 TC + Vit.D₃ vs. 6.9 TC vs. 6.0 Vit.D₃ vs. 5.2 control). En cuanto a sabor y aceptabilidad, no hubo diferencia comparado con los controles (p□ 0.05). Solo la aplicación de Vit.D₃ mejoró la terneza de la carne cuando se comparó con los controles (6.0 vs. 5.2 p<0.01), y además resultó en juicios de aceptabilidad más altos que los controles (7.4 vs. 6.9; p<0.05). Los animales sometidos a la técnica de TC registraron valores estadísticamente superiores para terneza (6.9 vs. 5.2), sabor (8.4 vs. 7.4) y aceptabilidad (9.1 vs. 6.9).

Como antecedente más reciente, Franco y col. (2011), evaluó el efecto de la combinación

de técnicas *in vivo* (administración parenteral de 8 x10⁶ UI de Vit.D₃ 15 días previo a la faena) y *post mortem* (electro-estimulación y tendercut) sobre la terneza de la carne en novillos cruza Hereford-Angus de dos años de edad. En cuanto al efecto de la administración de Vit.D₃ individual o combinada con las otras técnicas, no se encontró mejora en la terneza instrumental. La ausencia de efecto en textura, fue atribuida a niveles iniciales aceptables y probablemente menos proclives a cambios. Tal como se puede apreciar en el cuadro Nº 2, a la evaluación sensorial la administración de Vit.D₃ mejoró la terneza y el sabor, al igual que la combinación de Vit.D₃+TC+EE cuando se comparan con los controles. Cuando se evaluó la interacción de la Vit.D₃ con el TC y Vit.D₃+ EE, solamente mejoró la terneza sensorial.

Cuadro Nº 2. Efecto de la administración de Vit.D₃ y sus interacciones sobre la terneza y sabor de la carne.

Tratamientos	Terneza	Sabor	
Control	4,08 c	5,05 c	
Vit.D ₃ +EE	5,65 b	5,37 bc	
Vit.D ₃ +TC	6,00 b	5,25 c	
Vit.D ₃	6,30 b	5,60 b	
Vit.D ₃ +TC+EE	6,66 a	5,85 a	

Letras diferentes en la columna p<0.05

A continuación se presenta un cuadro con un resumen de los resultados obtenidos para los diferentes autores.

Cuadro Nº 3. Efecto de la administración de Vit.D₃ según los autores citados.

Autor	Cat./Raza	Dosis Vit. D ₃ (UI/animal)	Via adm.	Efecto sobre Ca++	WB (Kg/cm ²)	Sensorial
Swanek y col. 1999	Novillos Ang. X Heref.	5-7.5x10 ⁶ /7 días	Oral	↑ Ca ⁺⁺ sérico	↓ fuerza de corte a los 7 d.	Mejoró la terneza y sabor. A los 7 d.
Montgomery y col. 2000	Novillos Cont. X Brit.	5-7.5x10 ⁶ /10 días	Oral	↑ Ca ⁺⁺ sérico	↓ fuerza de corte a los 14 d.	N/S
Rider Sell, y col. 2004	Vacas cruza Angus.	5-7.5x10 ⁶ / 7 días	Oral	↑ Ca ⁺⁺ sérico	↓ fuerza de corte p/7.5x10 ⁶ a los 7 d.	N/S
Karges ¹ , y col. 2001	Novillos Ang. X Heref	6x10 ⁶ / 4 días	Oral	↑ Ca ⁺⁺ sérico y CRA	↓ fuerza de corte a los 14 d.	N/S
Karges ² , y col. 2001	Novillos Ang. X Heref	6x10 ⁶ / 6 días	Oral	↑ Ca ⁺⁺ sérico y CRA	↓ fuerza de corte a los 7 y 14 d.	N/S
Montgomery y col. 2002	Novillos Cruza	0.5 y 7.5x10 ⁶ /9 días	Oral	↑ Ca ⁺⁺ sérico	↓ fuerza de corte a los 7 d.	N/S
Hill y col. 1999	Novillos	7.5x10 ⁶ /10 días	Oral	Poco ↑ Ca ⁺⁺ sérico	N/S	N/S
Scanga y col. 2001	Novillos Charol. X Heref.	Bajas y altas dosis/ 5 días	Oral	↑ Ca ⁺⁺ sérico	N/S	N/S
De Moura A. 2002	Novillos Nelore	3x10 ⁶ / 10 días	Oral	Poco ↑ Ca ⁺⁺ sérico	N/S	Mejoró la terneza
Duckett y col. 2001	Novillos Brit. X Cont.	1.5 lts Ca ⁺⁺ en gel	Intraruminal	↑ Ca ⁺⁺ muscular	↓ fuerza de corte a los 4 y 7 d.	Mejoró la terneza
Feed y col. 2002	Vacas Hereford	10x10 ⁶ 15 días pre-faena	inyectable	↑ Ca ⁺⁺ sérico	↓ fuerza de corte a los 7 d.	
Franco y col. 2007	Novillos Holando	8x10 ⁶ 15 días pre-faena	Inyectable		N/S	Mejoró la terneza en los que no se aplicó TC a los 7 d.
Franco y col. 2011	Novillos Hereford	8x10 ⁶ 15 días pre-faena	Inyectable		N/S	Mejoró terneza y sabor

Como se puede observar, la mayoría de los trabajos que estudian el efecto de la Vit.D₃ sobre la terneza de la carne, son con suplementación oral, y muy pocos con otro método de

administración. También se puede aseverar que independientemente del método de aplicación de la Vit.D₃, se encontró un aumento de Ca⁺⁺ sérico. Si bien en la mayoría de los trabajos la administración de Vit.D₃ mejoró la terneza instrumental y/o sensorial, cabe destacar que los tiempos de maduración evaluados eran largos (7-14 días).

4.5.2. Alternativas post mortem

4.5.2.1. Electro Estimulación (EE)

Como se mencionó, disminuir la temperatura de la canal a menos de 10°C cuando el pH aún se encuentra con valores superiores a 6, lleva a un acortamiento por frio. Cuando se aplica la EE, las fases de glucólisis y *rigor mortis* se aceleran extraordinariamente, minimizando la posibilidad de acortamiento por frío pese a que se le someta a un enfriado rápido e intenso (Price, 1994).

A modo de historia, en 1749 Benjamín Franklin observó que al sacrificar pavos con electricidad, estos tenían carnes más blandas. En 1951, pasados dos siglos de lo descrito por Franklin, Harsham y Deatherage patentaron este procedimiento como método para ablandar la carne, pero su aplicación práctica no fue considerada hasta 1973 (Stiffler y col. 1984).

La investigación neozelandesa se inició primariamente para desarrollar un sistema que pudiera prevenir el endurecimiento de las carcasas de corderos cuando son enfriadas o congeladas en un estado *pre rigor*. Carse citado por Cross (1979), teorizó que acelerando la glucólisis *post mortem* en corderos por medio de la EE, se podría dar lugar a un rápido proceso de acondicionamiento. A su vez Davey y col. (1976), utilizaron la EE para acelerar el inicio del *rigor mortis* y así permitir un temprano desosado de la canal.

Este método permite mejorar la terneza de la carne, esta mejoría, estaría explicada por 3 teorías. La primera teoría, involucra el hecho de que los músculos que no son sometidos a estimulación eléctrica, sus fibras pueden acortarse durante el *rigor mortis* como respuesta al frío (acortamiento por frío). Stiffler y col. (1984), indica que las canales electro estimuladas sufren un descenso rápido del pH muscular (5.9-5.7 en pocas horas) reduciendo o impidiendo el acortamiento por frío.

La segunda teoría sobre la manera que actúa la EE, implicaría una rápida disminución del pH muscular mientras la temperatura de la canal todavía es alta. Dichas condición es muy favorable para que las enzimas lisosomales degraden las proteínas miofibrilares y de esta manera producir un ablandamiento más rápido de la carne. La bibliografía indica que las enzimas lisosomales de carcasas estimuladas eléctricamente, se liberan y trabajan más rápido en comparación a las no estimuladas eléctricamente. Dransfield y col. (1980), y Graafhuis y col. (1992), observaron que las canales estimuladas eléctricamente, a las 2 horas tenían características que se encuentran a las 12 hs. en canales que no son estimuladas.

La tercera teoría que explicaría el mecanismo por el cual la EE mejoraría la terneza de la carne, sería mediante daño a la fibra muscular, evidenciándose por observación de microfotografías electrónicas. Este daño, es un daño físico debido a las contracciones musculares violentas estimuladas por la aplicación de la técnica con altos voltajes, esto implicaría una alteración estructural de la fibra que está relacionado con aumento de la terneza (Stiffler, y col. 1984). Marsh (1986) y Takahashi, y col. (1987), concluyeron que el mecanismo clave por el cual la EE mejora la terneza, es a través de daños directo a la miofibrilla en vez de una disminución acelerada del pH.

Estos 3 mecanismos actuando en conjunto serían los responsables del aumento de la terneza de la carne cuando se aplica la EE.

La aplicación de esta técnica, tiene como objetivo principal el mejoramiento de la terneza de la carne, aunque también se ven afectados positivamente características tales como el color y estabilidad de éste, y las propiedades relacionadas con la retención de agua (Simmons y col., 2008). Al aplicar la EE, también se disminuye la probabilidad de aparición del "anillo de calor" (heat-ring), aumenta la firmeza del músculo, mejora el aspecto del corte según los minoristas (Stiffler y col. 1984), y aumenta 1 día más la vida útil de la carne en el mostrador (Savell y col., 1978). Es importante tener en cuenta que la EE puede llegar a representar un potencial riesgo para la calidad de la carne si no es aplicada con las debidas precauciones, ya que una estimulación excesiva cuando la temperatura aun es demasiado elevada, puede producir lo que se conoce como "carnes PSE" (Pale-soft-exudative), atributo indeseable en la carne (Hwang y col. 2001; Simmons y col., 2006).

Hay distintos tipos de EE, de bajo (menor a 100 V., EEBV) y alto voltaje (mayor a 100 V., EEAV), la utilización y eficacia de uno u otro tipo va a depender del momento en que es utilizada.

Koh y col. (1987), evaluó el efecto de la EE de alto (EEAV=500 V, 60 Hz, 90s.) y bajo voltaje (EEBV=50V, 60 Hz 15s.), en carnes de novillos Hereford y Angus maduradas por 3 días. Ambos tratamientos (EEAV y EEBV), mejoraron la terneza instrumental de la carne (control 6.81 vs. EEAV 5.37 vs. EEBV 5.37 Kg/cm²; p< 0.05), así como también los atributos sensoriales (firmeza: control 5.1, EEAV 4.5, EEBV 4.2, y jugosidad: control 4.4 vs. EEAV 4.6 vs. EEBV 4.5; p<0.05).

En base a estos resultados, se podría inferir que la EEBV puede ser tan eficaz como EEAV para mejorar de la calidad de la carne vacuna.

Si bien se puede utilizar cualquiera de estos 2 métodos, por razones de seguridad, el más difundido y utilizado actualmente por la industria cárnica, es EEBV.

En este sentido, varios autores (Chyrstall y col. 1980, Morton y Newbold 1982), reportaron que la aplicación de EEBV debe realizarse durante el desangrado del animal o hasta los 15-30 min. *post mortem*. Estos autores explican, que debe haber conducción nerviosa en la carcasa para que sea efectiva la EEBV, y que dicha conducción cesa a los 30 min. *post*

La EE puede estar condicionada por diferentes factores tales como:

- Niveles basales de terneza. (Cross 1979).
- Categoría de animal (Hawrysh y col. 1987; Crouse y col. 1983).
- Grado de terminación (Crouse y col., 1983; Tatum y col. 1999).
- Tipo de EE (Chrystall y col 1980; Morton y Newbold 1982).
- Manejo pre-mortem (Cross, 1979).
- Manejo post mortem (Tatum y col. 1999).
- Maduración (Stiffler y col. 1984).
- Congelado (Dransfied y col. 1991).

Savell y col. (1978), con el objetivo de estudiar el uso de la EE en conjunto con diferentes tiempos de maduración (7 y 21 días) sobre el músculo *L. dorsi*, encontró que las fuerzas de corte disminuyeron significativamente para los siguientes grupos:

- EE + 21 días de maduración (3.9 Kg/cm²) vs. Control + 21 días de maduración (5 Kg/cm²) p<0.05.
- Control + 21 días de maduración (4.7 Kg/cm²) vs. Control + 7 días de maduración (5.6 Kg/cm²) p<0.10.
- EE + 7 días de maduración (4.0 Kg/cm²) vs. Control+ 21 días de maduración (4.7 Kg/cm²) p<0.15.
- EE + 21 días de maduración (4.0 Kg/cm²) vs. EE + 7 días maduración (4.5 Kg/cm²) N/S

De este estudio se desprende que la EE y maduración por 7 días, serian suficiente para mejorar la terneza, ya que tienen mejor fuerza de corte que los solamente madurados por 21 días y no hay diferencia significativa cuando se compara con EE y maduración por 21 días. Por lo tanto, no es necesaria una maduración prolongada cuando se aplica esta técnica. Las muestras EE y maduradas durante 7 días tuvieron mayores pérdidas por cocción que las muestras controles maduradas por 7 días y que las EE + maduradas por 21 días (p<0.05).

A la evaluación sensorial, la terneza y flavor no se vieron afectados por los tratamientos, sin embargo las muestras que no fueron EE, tuvieron mejor puntuación en jugosidad en comparación con las que fueron EE.



Taylor y Cornell (1985), investigaron la influencia de la EE, maduración (28 días), y combinación de ambas técnicas sobre la terneza de la carne. Encontraron que usando EE, los valores de pH a las 0.5 y 4 hs post estimulación fueron inferiores en comparación con los controles que no fueron estimulados. A las 24 hs. esta diferencia no fue tal, ya que no diferian estadísticamente. Cuando se midió la terneza instrumental, se encontró que estos valores fueron notablemente mejores cuando se EE+maduración por 48 horas (5.80 vs. 7.94 Kg/cm²; p<0.05), se maduró por 28 días (5.38 vs. 7.94 Kg/cm²; p<0.05), o se combinaron las técnicas (4.03 vs. 7.94; Kg/cm²; p<0.05), comparando con los grupos controles. Las muestras que fueron EE+maduración por 28 días, resultaron en una fuerza de corte significativamente mejor que las que solamente fueron EE+maduración por 48 hs (4.03 vs. 5.80 Kg/cm²; p<0.05), pero esta diferencia no se ve cuando se compara con las muestras que solamente se maduraron por 28 días y no se EE (4.03 vs. 5.38 Kg/cm²; p>0.05). Los resultados de panel sensorial mostraron la misma tendencia a los descritos para fuerza de corte. Al comparar la maduración por 28 días, y EE+48 hs maduración, los valores de fuerza de corte no difieren estadísticamente, pero cuando son evaluadas por el panel sensorial si se encuentra diferencia significativa, siendo los mejores resultados a favor de la maduración (5.13 vs. 6.02 para EE+48hs mad. y 28 d. mad. respectivamente; p<0.05). Cabe destacar, que se trata de muestras maduradas durante 28 días vs. EE y 48 hs de refrigeración, por lo tanto se concluye que con la EE se acortan tiempos y se obtiene un producto de calidad similar.

Diferente bibliografía existente, menciona que a períodos cortos de maduración (menores a 7 días), no hay sinergismo entre la EE y maduración. Un ejemplo de ello son Carrere y Chiruchi (2009), que investigaron el efecto de la EE de bajo voltaje (EEBV) sobre las características instrumentales y sensoriales de la carne de novillos Hereford en períodos breves de maduración (1, 3 y 7 días). Cuando se evaluó la interacción entre EE y maduración, no se vio efecto aditivo en fuerza de corte o panel sensorial. Para el caso de la EE comparado con las muestras controles, las primeras, tuvieron una disminución significativa en la fuerza de corte (3.4 vs. 4.0 Kg/cm²); a su vez los controles madurados durante 7 días, mejoraron valores de WB en comparación con las muestras maduradas por 1 y 3 días (3.1 vs. 3.7 vs. 4.1 Kg/cm² para 7, 3 y 1 días respectivamente; p<0.05). Cuando se evaluó la terneza sensorial, el panel de consumidores encontró diferencia significativa entre todos los periodos de maduración (5.77 vs. 6.33 vs. 6.93 para 1, 3 v 7 días; p<0.05). Las carnes electro estimuladas, fueron catalogadas como más tierna frente a las muestras control (6.5 vs. 6.17 para EE y control respectivamente; p<0.05). En lo que refiere a sabor y aceptabilidad, la EE no tuvo un efecto significativo, sin embargo las muestras maduradas por 3 y 7 días fueron mejor puntuadas que las de 1 día (6.83 vs7.0 vs. 6.39 para 3, 7 y 1 día respectivamente; p<0.05). Para el atributo de aceptabilidad, se vio que a medida que aumentan los días de maduración, ésta, aumenta significativamente su puntuación.

Hawrysh y col. (1987), evaluó el efecto de le EE de bajo voltaje (EEBV) en vacas de descarte. Las evaluaciones se hicieron en muestras maduradas por 7 días. Los animales fueron divididos en tres grupos, Grupo 1 control, Grupos 2 estimulado 2 minutos post mortem, y grupo 3 que fueron estimulados 4 minutos post mortem, ambos a 30 V. A las 48 horas, se extrajeron las muestras de Semimembranoso (SM), Biceps femoris (BF), y se maduraron por 5 días más. Los resultados mostraron que el color del músculo de las vacas estimuladas, fue calificado como más brillante que los controles. Los valores obtenidos para la fuerza de corte en muestras de BF electro estimuladas, fueron inferiores a las de muestras control (7.0 vs. 9.0 Kg/cm² para EE v control respectivamente; p<0.05), esto no se vio reflejado en el panel sensorial, ya que los panelistas para este músculo no detectaron diferencias en la terneza y cantidad de tejido conectivo. Sin embargo, las muestras del músculo SM procedentes de carcasas estimuladas, fueron juzgados como más suaves (3.9 control vs. 5.9 EE), jugosas (3.9 control vs. 4.6 EE) y tiernas (3.9 control vs. 4.9 EE) que los controles (p<0.05). Para este mismo músculo, la fuerza de corte también disminuyó (6.9 vs. 5.3 Kg control y EE respectivamente; p<0.05). El aumento del intervalo entre sacrificio y EEBV (4 min. vs. a 2 min.), no tuvo ningún efecto sobre los atributos de calidad para cualquiera de los músculos (BF o SM).

Crouse y col. (1983), aplicó EEAV (550V, 80 Hz.) sobre carcasas de toros y novillos Hereford, y evaluó el efecto de esta técnica sobre la calidad de la carne. Las caracas fueron refrigeradas durante 2 días a 2° C, y posteriormente se congelaron. Para las muestras no EE, las carnes de toros presentaron una fuerza de corte 0.83 Kg mayor que la de novillos (4.49 vs. 3.66Kg/cm²; p<0.05). Esto se reflejó a la evaluación sensorial, ya que para terneza y flavor, los valores más bajos fueron para la carne de toro (5.30 vs. 6.32; 5.39 vs. 5.60 para terneza y flavor respectivamente; p<0.05). Las diferencias en terneza entre toros y novillos, está dada debido a la mayor cantidad de tejido conectivo que se presentan en los primeros. Esto coincide con Boccard y col. (1979), que informó que el contenido de colágeno es mayor en toros jóvenes que en novillos y que la solubilidad del colágeno disminuye notablemente con la edad. Las carnes electro estimuladas tuvieron una mejor apariencia y un color más claro. Las canales de novillos electro estimuladas mejoraron significativamente la terneza sensorial, ya que obtuvieron mejores puntuaciones que los controles y toros EE (6.57 vs. 6,06 vs. 5.25 para novillos, controles y toros EE respectivamente; p<0.01). En estos últimos, la EE no tuvo efecto significativo en la mejora de la terneza (5.25 EE vs. 5.36 control; p>0.05). Esto, fue similar a los resultados obtenidos por Göransson v col. (2000) pero utilizando EEBV (80 V, 15Hz 30s) en 6 toros jóvenes. donde encontró que la terneza instrumental no se vio afectada por dicho tratamiento. En este mismo estudio, se evidenció que la EE aceleró los procesos proteolíticos ya que el fragmento 30 kDa (indicador de actividad proteolítica) apareció más tempranamente en músculos electro estimulados.

Solomon y col. (1983), estudió el efecto de la EEAV (500V) sobre la carcasa de novillos Angus y Brahman. Las muestras de L. dorsi (LD) y B. femoris (BF) se extrajeron 5 días

post mortem y se congelaron para su posterior evaluación.

Para las muestras EE, se encontró que fueron más brillantes comparadas con las control, además no se vio desarrollo de "heat-ring" en estas, sin embargo, este fenómenos se desarrolló en las muestras no electro estimuladas. Tanto el LD como el BF, vieron reducidas sus fuerzas de corte cuando se le aplicó la EE y se los compara con los controles (LD= 4.3 vs. 6.7 Kg/cm²; p<0.001- BF= 4.8 vs. 5.2 Kg/cm²; p<0.03). Esto se vio reflejado en la evaluación sensorial, donde se evidenció que con el uso de EE los valores de terneza se incrementaron de levemente dura a moderadamente tierna (4.9 control vs. 6.1 EE; p<0.001), sin embargo para los atributos de flavor y jugosidad, la aplicación de esta técnica no mejoró los valores de base, ya que de por si dichos valores ya eran aceptables.

En el siguiente cuadro, se presenta un resumen de lo expresado por los autores mencionados anteriormente.

Cuadro Nº 4. Efecto de la EE según autores.

Autor	Cat/Raza	Tipo de EE	WB (Kg/cm²)	Sensorial
Koh y col. 1987	Novillos Angus y Hereforsd	EEBV/EEAV	↓ Fuerza de corte a los 3 d. para ambos trat.	Mejoró terneza y jugosidad a los 3 d.
Savell y col. 1978	Vaquillonas	EEAV	↓ Fuerza de corte a los 7 y 21 d.	N/S
Taylor y Cornell 1985	Novillos	EEBV	↓ Fuerza de corte con EE a las 48 hs, Mad a los 28 d., y EE+Mad a los 28 d	Mejora terneza. con EE a las 48 hs; Mad. a los28 d., EE+Mad a los 28d.
Carrere y Chiruchi 2009	Novillos Hereford	EEBV	↓ Fuerza de corte	Mejora terneza
Hawrysh y col. 1987	Vacas	EEBV	↓Fuerza de corte a los 7 d.	Mejoró terneza y jugosidad a los 7 d.
Crouse y col. 1983	Toros y novillos hereford	EEAV	↓ Fuerza de corte novillos, toros no a los 2 d.	Mejoro terneza novillos, no toros a los 2 d.
Goransson y col. 2000	Toros	EEBV	N/S	
Solomon y col. 1983	Novillos Angus y Brahman	EEAV	↓ Fuerza de corte a los 5 d.	Mejoró terneza a los 5 d.

EEBV= estimulación eléctrica de bajo voltaje; EEAV= estimulación eléctrica de alto voltaje; N/S= p>0.05.

Como se aprecia en el cuadro Nº 4, el uso de la EE independientemente del tipo de voltaje (EEAV y EEBV), mejoró no solo los valores de fuerza de corte, sino que también en su mayoría la evaluación sensorial. De este cuadro también se desprende que según Goransson y col. (2000) y Crouse y col. (1983), el uso de la EE no fue efectivo para mejorar la terneza de carnes provenientes de toros.

4.5.2.2. Tendercut (TC)

Un aspecto importante de los cambios de las fibras musculares en el post mortem, es el grado de acortamiento que se manifiesta durante el rigor mortis (Locker, 1960). En los músculos que entran en rigor mortis estando extendidos, los filamentos de actina y miosina apenas interpenetran y forman enlaces cruzados en pocos puntos, por lo tanto, la cantidad de actomiosina formada es pequeña, dando como consecuencias carnes blandas a la cocción. Se ha demostrado que la velocidad de ablandamiento durante la maduración, es más lenta en los músculos acortados al instalarse el rigor mortis (Davey y col. 1967).

A medida que la longitud del sarcómero disminuye, la terneza de la carne también disminuye, por lo tanto un aumento en la longitud de sarcómero, repercutiría mejorando la terneza (Locker, 1960).

Cuando una canal es colgada de modo tradicional (colgado del tendón de Aquiles), algunos músculos son distendidos de forma apreciable, mientras que en otros toda la tensión desaparece y quedan libres para acortarse (Herring y col. 1965.; Hostetler y col. 1972; Jeremiah y col, 1984). Además, el enfriado rápido de las carcasas e incluso el congelamiento *pre rigor*, producen acortamiento de los músculos y como consecuencia carnes más duras, esto se evidenció entre los años 1960-70 donde el enfriado rápido y el congelamiento se volvió una práctica habitual y los consumidores comenzaron a quejarse; de aquí en más, diferentes investigadores comenzaron estudios con el objetivo de evitar que dicho acortamiento suceda o minimizar sus efectos (Sorheim y col., 2002).

El acortamiento ejerce un efecto que provoca un aumento de la dureza. Una de las maneras que se ha planteado para resolver esta limitante, es la de alterar el modo de colgar la canal. Con este método, podemos influir sobre la calidad de ciertos músculos en los cuales se induce un cierto grado de tensión, ya que cuando se aplica una carga de magnitud suficiente sobre el músculo (como el peso de la canal cuando se altera el método de colgado), éste, no es capaz de acortarse (Aalhus y col., 1999).

Sorheim y col. (2002), menciona que restringir la contracción o estirar el músculo más de 10 a 20 % es suficiente para que sea beneficioso sobre la terneza de la carne.

La eficacia de la técnica de alteración de colgado (AC), puede ser evaluada mediante la medición de la longitud del sarcómero. Ha sido demostrada una fuerte correlación negativa entre longitud de sarcómero y fuerza de corte cuando aquellos son menores 2 µm,

disminuyendo dicha relación a medida que aumenta su longitud (Herring y col., 1967; Bouton y col., 1973). Diferentes estudios mencionan que dicha correlación se encontraría entre valores de r -0.34 a -0.80 (Herring y col., 1965; Hostetler y col. 1972; Wang y col. 1994). Sin embargo a pesar de esta correlación, no siempre sarcómeros mas largos resultan en carnes mas tiernas, esto fue demostrado por Shank y col. (2002), donde comprobó que músculos con cierto grado de tensión a los que se le impidió que se produjera un acortamiento en el rigor, tenían mayor longitud de sarcómero, pero esto no se tradujo en una menor fuerza de corte. Puntualmente para el caso del Semitendinoso, éste, aumentó su longitud de sarcómero en un 16% pero la fuerza de corte fue mayor (4.03 AC vs. 3.75 sin AC; p<0.05). Estos resultados son similares a los descriptos por Hostetler y col. (1970; 1972, 1973), que estableció que un aumento de la longitud del sarcómero no siempre se acompaña con una disminución en la fuerza de corte y mejores puntuaciones de terneza en el panel sensorial, especialmente para el músculo Semitendinoso. Estos autores atribuyeron la falta de mejoramiento en la terneza, al alto contenido de tejido conectivo presente en este músculo, esto también podría estar explicado por la proximidad del músculo a la zona en donde se aplica el tratamiento, y además a la orientación de las fibras en relación a la tensión que se aplica sobre el mismo (Shank y col., 2002).

Como se mencionó anteriormente, una posibilidad para prevenir dicho acortamiento es aplicar alternativas de colgado de la canal. La primera alternativa en describirse fue el "Tenderstretch" (TS), desarrollada en la década del 70. Aplicando esta técnica logramos tensionar músculos de gran importancia económica (*L. dorsi* y músculos de la pierna) que mediante el método tradicional de colgado se encuentran relajados y por lo tanto propensos a un acortamiento. El TS, consiste en colgar la canal del orificio obturador de la cadera de manera tal, que el cuarto trasero cuelga formando un ángulo de 90° con respecto a la columna vertebral (Fig. N° 3).



Figura Nº 3. Carcasa con aplicación de Tenderstretch. (Fuente: Ahnström, 2008).

Estudios sobre TS, han confirmado la ventaja de esta técnica en mejorar la terneza de los músculos sometidos a condiciones de enfriamiento rápido (Bouton y col., 1973), obteniendo niveles de terneza a los 2-3 días post-sacrificio iguales a los que se obtienen luego de 3 semanas de maduración (Bouton y col., 1973; Ludwig y col., 1997; O' Halloran y col., 1998). Eikelenboom y col. (1998), aplicando esta técnicas encontró que en comparación con las carcasas colgadas de manera convencional, las que sufrieron TS tuvieron un aumento del 41% en la longitud de sarcómero para el semimembranoso y 21% para el L. dorsi, a su vez, esto repercutió positivamente disminuyendo la fuerza de corte.

Si bien esta técnica tiene los beneficios ya citados sobre la terneza, hay ciertas desventajas: debido a que es colgado del orificio obturador, el pubis es propenso a romperse, así como también el ligamento íleo-sacro; además, el cuarto trasero cuelga en 90°, por lo que requiere más espacio en las cámaras de enfriado (Sorheim y col., 2001).

Más recientemente en el año 1994, en el Instituto Politécnico de Virginia (E.E.U.U.), Wang, Claus y Marriott, desarrollaron otro método de alteración de colgado llamado "Tendercut" (TC). Esta técnica tiene como objetivo tensionar el músculo *L. dorsi* y los músculos del cuarto trasero para así prevenir el acortamiento del sarcómero durante el rigor, resultando en cames mas tiernas. El TC, consiste en el colgado tradicional de la canal por el tendón de Aquiles, el aserrado de la columna vertebral a nivel del 12 y 13^{cr} espacio intercostal (Fig. Nº 4), cortar todo tejido circundante al aserrado (tejido conectivo y adiposo), y además, se hace un aserrado del *Isquion* a nivel de la 4ª/5ª vertebra sacra.

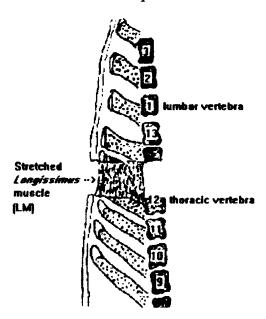


Figura Nº 4. Tendercut. Se muestra el estiramiento muscular después del aserrado de la columna a nivel de la 12/13^a vertebra torácica. (Fuente: Taylor y Hopkins, 2011)

Estos mismos autores en 1997, estudiaron la posibilidad de implementar esta técnica a nivel industrial. En tal sentido, encontraron que el TC aumentó la longitud de sarcómero en 32%, y mejora la terneza tanto instrumental como la sensorial para los músculos Longissimus dorsi, Glúteo medio y Recto femoris. Sin embargo en el caso del Bíceps femoris no hubo mejora en la fuerza de corte (WB). La explicación que se encontró para la falta de respuesta, sugiere que la localización de dicho músculo con respecto a los sitios donde se aplica el tratamiento está muy lejos, por lo tanto el músculo no se estiró lo suficiente; también se reconoce que la cantidad de colágeno presente en el músculo, podría haber enmascarado el efecto del tratamiento. Este autor concluye que el TC podría ser aplicado a futuro en forma comercial, ya que proporcionaría beneficios inmediatos a la industria.

Además de estos beneficios mencionados, la utilización de esta técnica, puede aplicarse en las condiciones ya existentes en la planta de faena, no necesita espacio extra en las cámaras de frío, ni corre riesgo de que se rompa el sitio de colgado. Cuando se utiliza el TC, es importante recordar que la canal aumenta 15-20 cm su longitud, por lo tanto, esto habría que tenerse en cuenta para la altura de los rieles de los cuales cuelgan las canales (Sorheim y col., 2001).

Sorheim y col. (2001), con el objetivo de determinar el efecto del TS y TC a rápidas y medias velocidades de enfriamiento sobre el músculo L. dorsi en canales vacunas, demostró que al aplicar cualquiera de estas dos técnicas en un enfriado rápido (almacenamiento a 2º C durante 48 hs), aumentó la longitud del sarcómero 23 % para TS (2.03 vs. 1.64 µm) y 12 % para TC (1.94 vs. 1.73 μm), este aumento se acompaña con una disminución de la fuerza de corte de 41 % TS (61.4 vs. 103.2 N/cm²) y 23 % TC (67.2 vs. 87.4 N/cm²). Comparando ambas técnicas entre sí, tanto para longitud de sarcómero como para fuerza de corte no se vio diferencia significativa, por lo tanto, al implementar cualquiera de estas dos técnicas (TS ó TC) con velocidades de enfriado rápido, se mejoraría la terneza. Esto se refleja en la evaluación sensorial, donde las canales con TS y TC recibieron una mejor puntuación para terneza comparadas con los controles (TS=6.3; TC=5.4; Control= 3.9). Sin embargo para las canales con enfriados medios (10° C por 7 hs. y luego almacenamiento a 2°C), no se encontró diferencia significativa en terneza entre TS, TC y control. En este trabajo, se concluye que la aplicación de métodos que alteran el colgado de la canal (TS o TC), mejoran la terneza de la carne cuando las condiciones son propicias para que se produzca el acortamiento por frío.

Ludwig y col. (1997), evaluó la acción del TC sobre el L. dorsi para 3 y 10 días de maduración. En cuanto a resultados sobre longitud de sarcómero, se encontró que a los que se le aplicó TC, aumentaron un 25% su longitud con respecto a los controles. Para fuerza de corte, no se encontró diferencia estadística en 3 ó 10 días de maduración. El TC, mejoró jugosidad y terneza a los 3 días de maduración (jugosidad: 6.1 vs. 6.4; para terneza: 5.6 vs. 6.5; con un p≤0.05), y a los 10 días no se encontraron diferencias significativas. La

calificación para jugosidad y terneza en las muestras de carcasas con TC a los 3 días de maduración, es equivalente a la de las muestras procedentes de los controles después de 10 días de maduración. Resultado similar obtuvo O'Halloran y col. (1998), donde encontró que la terneza de las muestras procedentes del TS a las 24 horas, fue equivalente a la obtenida por aquellas muestras que fueron maduradas por 14 días y con colgado tradicional. Además, este autor menciona que las muestras con TS tuvieron 1 % menos de perdidas por cocción comparados con los colgados tradicional (20.61 vs. 19.57 %; p<0.01).

Ahnström y col. (2009), evaluando TS y diferentes días de maduración (7 y 14 días) en novillos cruza Charolais, encontró un efecto positivo de la maduración sobre la fuerza de corte, siendo las muestras maduradas por 14 días más tiernas que las de 7 días. Además encontró que las muestras con TS y 7 días de maduración, no diferían de los obtenidos a los 14 días y colgado tradicional. Cuando se evaluó sensorialmente, la aplicación de TS afectó positivamente los atributos de terneza, y sabor.

Franco y col. (2007), estudiando el efecto de la técnica de TC en novillos Holando para diferentes días de maduración (3 y 7 días), evidenció que el TC, independientemente de los tiempos de maduración, produjo una reducción en la fuerza de corte (3.70 vs. 3.28 Kg/cm²; con p≤0.05), no evidenciándose sinergismo entre técnicas; cuando se evalúan solo los tiempos de maduración, la terneza instrumental no se vio afectada. Según los autores, esto puede estar explicado a que los tiempos de maduración fueron muy cortos y al hecho de que los valores de textura de base eran de por si bajos. También se vio un incremento en la longitud de sarcómero del 13.5% en las canales a las que se les aplicó TC frente a la técnica de colgado tradicional (1.86 control vs. 2.11 μm TC; con p≤ 0.05). En cuanto a la evaluación sensorial, la interacción entre TC y maduración, no fue significativa para los atributos testeados (p>0.05); la carne del los animales con la técnica TC, resultó con mejores puntuaciones en terneza con respecto a los controles (7.6 vs. 7.1; p≤ 0.05), sin diferencias en la calidad de sabor y aceptabilidad (p≥0.05).

Park y col. (2008), encontró que en carcasas con 7 días de maduración, la fuerza de corte para muestras provenientes de TS, tuvieron menores valores que las provenientes de colgado tradicional (26.7 vs. 31.1 N/cm²; p=0.05). Esta disminución en la fuerza de corte, se acompañó con una aumento en la longitud de sarcómero del 18% (2.24 vs. 1.83 μm; p≤0.05). En cuanto a los resultados obtenidos por el panel sensorial, el TS mejoró la terneza (71.5 TS vs. 62.4 control), jugosidad (69 TS vs. 65.0 control), y flavor (68.8 TS vs. 63.8 control) con un p≤0.05.

Aalhus y col. (1999), modificó la técnica de TC propuesta por Wang y col. 1994, sustituyendo el aserrado del isquion por el aserrado del íleon (OLAS), encontró que el músculo *L. dorsi* tuvo un aumento en la longitud de sarcómero en promedio del 3.2%, y una disminución significativa en la fuerza de corte de 2.38 kg/cm² para dicho músculo madurado durante 6 días, esto repercutió de manera positiva en las calificaciones del panel

sensorial para terneza (5.13 control vs. 5.78 OLAS), y palatabilidad (5.35 control vs. 5.83 OLAS) con un p<0.05.

En el año 2000, este autor estudió la interacción de técnicas que se aplican post mortem para mejorar la calidad de la carne maduradas durante 7 días. En tal sentido utilizó la AC, EE (21 V, 60 Hz, por 20s.), y la interacción entre ambas, en novillos cruza británicos. Al medir la longitud de sarcómero, estos fueron un 20% más largos para los carcasas con AC (2.29 vs. 1.90 μm). En lo que respecta a valores de fuerza de corte, para AC se redujo un 12 y 29% para el L. torácis (LT) y L. lumborum (LL) respectivamente (p<0.05).

La EE resultó en una mejora significativa en los valores de fuerza de corte para LT (-0.81 Kg.) y LL (-1.15 Kg.), y en un grado de color más brillante. Cuando se evaluó el efecto de ambas técnicas en el músculo LT, éstas no tuvieron efecto aditivo. En este músculo a la evaluación sensorial, si bien se encontró un efecto aditivo entre la combinación de AC+EE, el efecto de esta interacción, no difiere estadísticamente al efecto encontrado por el uso del las técnicas aplicadas individualmente para terneza y aceptabilidad.

Derbyshire y col., (2006), se planteó como objetivo evaluar el efecto de la EE, TS y maduración por 7 días, y la interacción entre ellas. Para ello se utilizaron 32 novillos Bonsmara de 12 meses de edad. De estos animales se tomaron muestras del *L. dorsi*, las cuales se dividieron en dos grupos, unas se congelaron a las 24 hs. y las otras se maduraron por 7 días. En lo que respecta a longitud de sarcómero, el TS fue la única técnica que aumentó esta característica en un 7.5% en comparación con el control (2.01 vs. 1.87μm; p<0.05). En cuanto a fuerza de corte, los 3 tratamientos individualmente (EE, TS, maduración), presentaron menores valores en comparación con los controles. Se vio una interacción entre EE y maduración por 7 días, ya que los valores de fuerza de corte fueron menores que cuando solo se maduró por 7 días (4.28 vs. 5.74 Kg/cm²; p<0.05). En lo que respecta a las otras combinaciones, si bien la fuerza de corte es significativamente mejor que el control, entre ellas no se aprecio diferencia. De este trabajo se desprende que la aplicación de EE ó TS, es útil cuando no es posible la maduración y solamente se refrigera la carne por 24 hs.

Como antecedente más reciente, Franco y col. (2011a, y 2011b), evaluó el efecto de la combinación de técnicas *in vivo* (administración parenteral de 8 x10⁶ de Vit.D₃ 15 días previo a la faena) y *post mortem* (electro-estimulación y tendercut) sobre la terneza de la carne en novillos cruza Hereford-Angus de dos años de edad. De los tratamientos analizados, la técnica de TC y los tiempos de maduración tuvieron un efecto significativo en los valores de fuerza de corte, evidenciándose una interacción entre ambos (p<0.01). El TC, disminuyó la fuerza de corte en carne madurada por 2 y 6 días, pero no a los 9 días. Al aplicar TC, disminuyeron los valores de fuerza de corte a los 2 días de maduración, mejorando incluso los logrados con carne madurada por 6 días sin el uso de esta técnica. Esta mejora en los valores de fuerza de corte, estuvo asociado con un aumento del 27% en

la longitud de sarcómero.

La utilización de EE no tuvo efecto sobre la fuerza de corte, y además no hubo efecto aditivo en combinación con el TC. La administración de Vit.D₃, no tuvo efecto cuando se evaluó individualmente o combinada con las otras técnicas. La ausencia de efecto en textura, fue atribuido a niveles iniciales de por si aceptables. Según Montgomery y col. (2000), la mejora en la terneza de la carne por el uso de Vitamina D₃, ocurre fundamentalmente en animales con alta dureza inicial y no en carnes inherentemente tiernas.

De las alternativas tecnológicas utilizadas, sólo el TC tuvo incidencia en las notas del panel sensorial, registrándose interacción con otros tratamientos analizados. En el caso particular de la terneza, se obtuvieron los mayores valores para la carne cuyas canales fueron sometidas al TC (6.38 vs. 5.54, para TC y control respectivamente; p<0.05). Sin embargo, como se muestra en el cuadro Nº 5, cuando se evaluó la interacción de dichas técnicas, se registró un efecto positivo con la administración de Vitamina D₃ y la EE.

Cuadro Nº 5. Efecto de la administración de Vitamina D₃, EE, y TC sobre la terneza y sabor de la carne. Medias de Mínimos Cuadrados.

Tratamientos	Terneza	Sabor
Control	4,08 c	5,05 c
Vit. D₃+EE	5,65 b	5,37 bc
EE	5,94 b	5,88 a
Vit. D₃+TC	6,00 b	5,25 c
EE+TC	6,26 b	5,40 b
Vit. D ₃	6,30 b	5,60 b
тс	6,62 a	5,55 b
Vit. D ₃ +TC+EE	6,66 a	5,85 a

Letras diferentes en columna fila p<0.05

(Fuente: Franco y col., 2011)

Como se aprecia en el cuadro Nº 5, a pesar de que la asociación de las técnicas (TC + Vitamina D₃ o TC+EE), resultaron mayores frente a los controles, no lograron superar las puntuaciones por el solo uso del TC.

Las puntuaciones más altas en calidad del sabor, se obtuvieron por la utilización en forma conjunta de EE, Vit.D₃ y TC, o con la EE individualmente.

A modo de resumen, en el cuadro Nº 6, se presentan los efectos principales de la aplicación de TS o TC según los autores citados.

Cuadro Nº 6. Efecto de la aplicación de alteración de colgado según los autores.

Autor	Alteración del colgado	Músculo	Long. de sarcómero	WB (Kg/cm²)	Sensorial
Ludwig y col. 1997	TC	L. dorsi	†25%	↓Fuerza de corte a los 3 d.	Mejoró terneza y jugosidad a los 3 d.
Aalhus y col. 1999	TC	L. dorsi	†3.2%	↓Fuerza de corte a los 6 d.	Mejoró terneza y palatabilidad a los 6 d.
Franco y col. 2007	TC	L. dorsi	↑13.5%	↓Fuerza de corte	Mejoró terneza.
Sorheim y col. 2007	TS y TC	L. dorsi	†23% TS y †12% TC	↓ TS y TC, Fuerza de corte a los 2 d.	TS y TC mejoró terneza a los 2d.
Park y col. 2008	TS	L. dorsi	†22%	↓Fuerza de corte a los 7 d.	Mejoró terneza, jugosidad y flavor a los 7 d.
Ahnstrom y col. 2009	TS	L. dorsi		↓ Fuerza de corte a los 7 d.	Mejoró terneza a los 7 d. y sabor a los 14 d.

TC= Tendercut; TS= Tenderstretch

Como se puede apreciar en el cuadro Nº 6, independientemente de la técnica de alteración de colgado utilizada (TC o TS), la longitud de sarcómero aumenta para todos los casos. Este aumento en longitud de sarcómero, se acompaña con una disminución en la fuerza de corte y mejores puntuaciones del panel sensorial independientemente de los tiempos de maduración que se utilizaron.

5. Objetivos:

5.1. Objetivo General:

Evaluar el efecto la aplicación de alternativas tecnológicas *in vivo* (administración parenteral de Vit.D₃) y *post mortem* (alteración del colgado, tendercut y EE de bajo voltaje) sobre la terneza de la carne de novillos Holando.

5.2. Objetivos Específicos:

- ❖ Determinar el efecto aislado y/o efectos de aditividad de la administración de Vitamina D₃ previo a la faena, la estimulación eléctrica durante el desangrado y la aplicación del método de "Tendercut" a la canal, sobre la terneza de la carne en novillos Holando, midiendo la fuerza de corte por cizalla Warner-Bratzler.
- Estudiar el impacto de las distintas técnicas sobre tiempos cortos de maduración post mortem
- Corroborar a través de panel de consumidores la preferencia de la carne proveniente de las distintas técnicas y períodos de maduración utilizados.

6. Hipótesis

Si bien el Tendercut y la estimulación eléctrica, tienen efecto mejorando la terneza de la carne a través de un mecanismo similar (mayor estiramiento de los músculos en el pre rigor y la prevención del acortamiento muscular) en los primeros días de maduración, la Vitamina D₃ puede generar un efecto aditivo en interacción con estas técnicas sobre la terneza en cortos períodos de maduración. Esto se fundamenta en que la m-calpaina necesita más Ca⁺⁺ para su activación y de esta forma el aumento en la concentración muscular del Ca⁺⁺ por la administración de Vitamina D₃, podría mejorar junto a las otras técnicas esta característica de la carne.

7. Materiales y métodos

Para el presente trabajo, se utilizaron 32 novillos de raza Holando, de 2 años de edad, de 460 \pm 28,6 Kg de peso vivo y 4.2 ± 2 mm de espesor de grasa en la 10^a costilla provenientes de la Estación Experimental Mario Cassinoni (EEMAC), departamento de Paysandú, Uruguay, manejados sobre campo natural y praderas cultivadas.

Previo al sacrificio los animales fueron identificados individualmente con caravanas y estratificados por peso y estado corporal, sometiéndolos al azar a dos tratamientos: un lote testigo (n=16) y al restante (n=16) se le administró una única dosis intramuscular de 8 millones de UI de Vit.D₃/ animal, 15 días previos al sacrificio.

Los animales fueron transportados y sacrificados en el Frigorífico CLEDINOR S.A. planta Salto, permaneciendo en ayuno y con acceso a agua previo al sacrificio.

De cada uno de estos tratamientos (Vit.D₃ y control), la mitad de los animales (n=8) permanecieron como testigos, mientras que las canales de los restantes fueron estimuladas eléctricamente durante el desangrado (80 V, frecuencia de pulsos 15 Hz durante 30 segundos). Tras el sacrifico, a cada animal alternativamente sobre las medias canales izquierdas y derechas se le realizó el método de alteración de colgado "Tendercut" (Wang y col., 1994), permaneciendo la media canal restante como testigo. Según el orden de ingreso a las cámaras de refrigeración se procedió a la identificación de cada una de las medias canales. A las 48 h post-sacrificio se determinó sobre el área del músculo *L. dorsi* de la 10^a costilla el pH final mediante un peachímetro Hanna® con electrodo de penetración, accediendo al músculo en forma perpendicular y en dirección caudo-craneal. De cada una de las medias canales se extrajeron 6 muestras de 2,5 cm de espesor del músculo *L. dorsi* entre la 10^a costilla y 1^a vértebra lumbar. Dichas muestras se envasaron al vacío y fueron enviadas al Laboratorio de Carne de la EEMAC, donde permanecieron en cámaras de refrigeración a 4^o C hasta alcanzar los correspondientes días de maduración (2, 6 y 9 días), luego fueron congeladas a -18°C, para su posterior análisis.

A las muestras maduradas por 2 días, se determinó longitud de sarcómero en el Laboratorio Regional (Paysandú) de la División Laboratorios Veterinarios (DILAVE) "Miguel C. Rubino". Para esto, se cortaron muestras de forma cúbica de aproximadamente 5 mm de lado y se introdujeron en un tubo de ensayo, fijándose durante 1 h con solución de glutaraldehído al 2,5 %. Luego se separaron 4-5 haces de fibras musculares y se colocaron en un porta-objetos, añadiéndose 2-3 gotas de agua destilada y colocando un cubre-objetos, procediéndose a la lectura al azar (al menos 8 lecturas por muestra) sobre distintas regiones de cada uno de los preparados. Se utilizó un microscopio óptico con lente de inmersión.

Para las determinaciones de la fuerza de corte, las muestras de cada uno de los tiempos de maduración se descongelaron hasta alcanzar los 16.2 ± 1.6 °C de temperatura interna con

electrodo de penetración en el centro de cada bife y luego se desgrasaron para ser sometidas a cocción en baño termostatizado con el fin de alcanzar las temperaturas de 70°C en el centro térmico de la muestra. De cada una de éstas, se extrajeron de 8 a 10 sub-muestras de 1,27 cm de diámetro, con sacabocados, paralelo a la orientación de las fibras. Dichas sub-muestras fueron sometidas a la fuerza de corte de la cizalla Warner Bratzler, a una velocidad de 100 mm/minuto mediante un equipo Instron 3342.

Para el análisis sensorial, las muestras se descongelaron hasta alcanzar los 16.2 ± 1.6 °C de temperatura interna con electrodo de penetración en el centro de cada bife y luego se procedió a la cocción en Grill de doble plancha hasta alcanzar una temperatura de 70°C en el centro térmico de la muestra siguiendo la técnica descripta por Guerrero (2000). Las muestras se presentaron en cabinas individuales, bajo iluminación roja para enmascarar las diferencias en el color de la carne. El panel estuvo conformado por 180 consumidores de ambos sexos, que trabajaron en 18 sesiones (10 consumidores/sesión) de 1 hora de duración, evaluando un total de 180 platos de 8 muestras cada uno, totalizando 1440 muestras.

El diseño utilizado fue incompleto (no todos los tratamientos fueron evaluados por el mismo consumidor) y balanceado (todos los tratamientos se probaron la misma cantidad de veces).

La escala utilizada fue de tipo discontinua y estructurada con una amplitud de 10 puntos, siendo 1: carne muy dura, muy desabrida o muy desagradable; 10: carne muy tierna, muy sabrosa o muy agradable, para los atributos: terneza, jugosidad y aceptabilidad, respectivamente.

Para el análisis estadístico de las variables de calidad instrumental se utilizó un diseño con arreglo factorial de tratamientos y un modelo experimental de bloques completos al azar en parcelas divididas, donde cada animal era un bloque. Se evaluaron los efectos principales y las interacciones. Se utilizó al procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS versión 9.1 (SAS, Institute, Inc., 2003).

Para el análisis sensorial se utilizó un modelo lineal generalizado asumiendo una distribución multinomial que incluyó como efectos: sesión, consumidor anidado a sesión, orden de la muestra, tratamientos e interacción entre los tratamientos. Se utilizó el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS versión 9.1 (SAS, Institute, Inc., 2003) y un nivel de significación de p≤0.05.

8. Resultados

8.1. Evaluación Instrumental

Antes de comentar los resultados de las distintas variables de respuesta debemos mencionar que no hubo efecto de los tratamientos en los valores de pH final de la carne, alcanzando una media de (5.73 ± 0.03) .

El resumen de los resultados de la aplicación de los diferentes tratamientos y sus combinaciones en relación a la fuerza de corte, longitud de sarcómero y pérdidas por cocción (PPC), se pueden observar en el cuadro Nº 7.

Cuadro Nº 7. Valores de F y niveles de significación de los efectos principales y sus interacciones, numerador y denominador de los grados de libertad (Ngl, Dgl), sobre fuerza de corte, longitud de sarcómero, y pérdidas por cocción.

		Fuer	rza de									
		co	rte			Long.	Sarcó	mero		PPC		
	Ngl.	Dgl.	F	P	Ngl	Dgl.	F	P	Ngl.	Dgl.	F	P
Vit. D ₃	1	55.9	0.00	n/s	1	55.0	3.15	n/s	1	57.6	4.86	<0.05
EE	1	55.9	0.00	n/s	1	55.0	3.29	n/s	1	57.6	1.51	n/s
TC	1	55.9	23.70	< 0.0001	1	55.0	7.55	<0.05	1	57.6	0.64	n/s
Maduración	2	111.0	104.42	< 0.0001					2	109.0	1.78	n/s
Vit. D ₃ x EE	1	55.9	0.01	n/s	1	55.0	2.58	n/s	1	57.6	1.10	n/s
Vit. D ₃ x TC	1	55.9	0.12	n/s	1	55.0	0.07	n/s	1	57.6	0.13	n/s
Vit D x Mad.	2	111.0	1.46	n/s					2	109.0	0.65	n/s
EE x TC	1	55.9	0.28	n/s	1	55.0	0.52	n/s	1	57.6	0.03	n/s
EE x Mad.	2	111.0	2.55	n/s					2	109.0	0.43	n/s
TC x Mad.	2	111.0	8.56	< 0.001					2	109.0	1.73	n/s
Vit.D3xEExMad.	2	111.0	1.71	n/s					2	109.0	0.57	n/s
EE x TC x Mad.	2	111.0	0.15	n/s					2	109.0	0.56	n/s
Vit.D ₃ x EE x TC	1	55.1	0.60	n/s	1	55.0	0.20	n/s	1	59.1	0.00	n/s
Vit.D ₃ xTCxMad.	2	111.0	0.24	n/s					2	109.0	1.93	n/s

De este cuadro se desprende que para la variable fuerza de corte, solo se apreció diferencia significativa cuando se aplicó TC, maduración y la combinación de ambas técnicas. Para el resto de las alternativas tecnológicas aplicadas, no se vieron diferencias estadísticas cuando se compararon con los controles.

En lo que respecta a longitud de sarcómero, se observó que la aplicación de TC fue la única alternativa tecnológica que afectó este parámetro, dado que para el grupo control la longitud promedio fue 1.66 μm y para los TC fueron 2 μm. Esto significa que los sarcómeros de las muestras procedentes del TC fueron 20.5% más largos.

En lo que refiere a las pérdidas por cocción, la única alternativa estudiada que influyó sobre este parámetro, fue la aplicación de Vit.D₃.

Cuadro Nº 8. Influencia de la Vit.D₃ sobre las pérdidas por cocción

Tratamiento	PPC (%)
Control	30.90 ± 0.36 a
Vit. D ₃	$29.78 \pm 0.36 \text{ b}$

Letras diferentes en columna p<0.05

Como se observa en el cuadro Nº 8, las muestras procedentes de los animales a los que se les administró Vit.D₃ previo a la faena, fueron las que tuvieron menores pérdidas por cocción.

Como se desprende de la figura Nº 5, alterar el método de colgado de la canal, influyó positivamente sobre la fuerza de corte. Las muestras a las que se le aplicó TC tuvieron valores inferiores de fuerza de corte en comparación con los controles (p<0.0001).

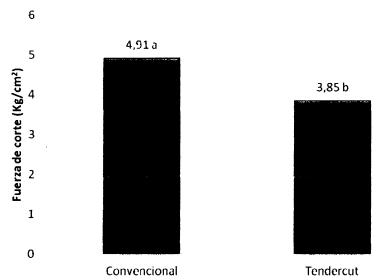


Figura Nº 5. Comparación entre métodos de colgado y su influencia sobre la fuerza de corte. Letras diferentes (a, b) p<0.0001.

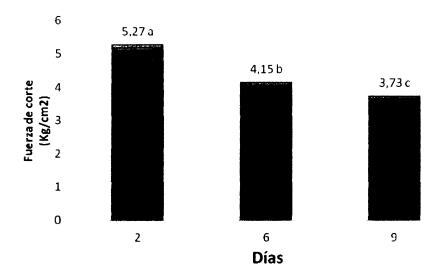


Figura Nº 6. Comparación entre diferentes días de maduración y su efecto sobre la fuerza de corte. Letras diferentes (a, b, c) p<0.0001.

Como se puede apreciar en la figura N° 6, a medida que aumentan los días de maduración, los valores de fuerza de corte disminuyen significativamente, obteniéndose los menores valores a los 9 días ($p \le 0.0001$).

Cuadro Nº 9. Valores de fuerza de corte para la interacción entre TC y diferentes días de maduración.

		i iempo de maduración	
	2 días	6 días	9 días
Método de colgado			
Convencional	6.06 ± 0.17 a	4.62 ± 0.17 a	$4.07 \pm 0.17 a$
Tendercut	$4.48 \pm 0.17 b$	$3.67 \pm 0.17 \text{ b}$	3.39 ± 0.17 a

Diferentes letras en la misma columna p≤0.001

Del cuadro Nº 9, se desprende que hubo un efecto aditivo sobre la fuerza de corte cuando se combinaron ambas técnicas. Es decir, cuando se aplicó TC y se maduró, las muestras tuvieron valores de fuerza de corte a los 2 y 6 días significativamente menores en comparación con las de colgado convencional. Si bien las muestras con TC y maduradas por 9 días son numéricamente inferiores a las maduradas y con colgado tradicional, éstas,

no difieren estadísticamente (p>0.05). Otra observación del cuadro Nº 9, es que las muestras maduradas por 2 días y con TC, tienen menor fuerza de corte en valores absolutos que las solamente maduradas por 6 días, pero no así comparadas con las de 9 días de maduración.

8.2. Evaluación Sensorial

En el cuadro Nº 10, se presenta un resumen de los resultados obtenidos en la evaluación por el panel de consumidores para las variables estudiadas (terneza, sabor y aceptabilidad). En éste, se detallan los niveles de significación de los efectos principales y las interacciones de los diferentes tratamientos

Cuadro N°10. Grados de libertad, valores de χ^2 y niveles de significación de los efectos principales y sus interacciones sobre las notas del panel sensorial de consumidores.

ļ	Terneza			Sabor			Aceptabilidad		
	Gl	x^2	P	Gl	x^2	P	Gl	x^2	P
Vit.D ₃	1	28.51	< 0.0001	1	5.28	<0.05	1	13.24	<0.01
EE	1	3.13	n/s	1	5.53	n/s	1	0.16	n/s
TC	1	116.20	< 0.0001	1	21.18	<0.0001	1	49.71	< 0.0001
Maduración	2	171.10	< 0.0001	2	27.93	<0.0001	2	74.78	<0.0001
Vit.D ₃ xEE	1	0.96	n/s	2	0.44	n/s	1	0.57	n/s
Vit.D ₃ xTC	1	1.58	n/s	1	0.14	n/s	1	0.54	n/s
Vit.D ₃ xMad.	2	0.74	n/s	2	7.77	n/s	2	2.03	n/s
EExTC	1	0.98	n/s	1	0.02	n/s	1	0.06	n/s
EExMad.	2	13.23	n/s	2	3.36	n/s	2	1.39	n/s
TCxMad.	2	13.42	<0.01	2	3.08	n/s	2	5.30	n/s
Vit.D3xEExMad.	2	0.42	n/s	2	0.57	n/s	2	0.97	n/s
EExTCxMad.	2	1.04	n/s	2	2.32	n/s	2	2.92	n/s
Vit.D ₃ xEExTC	1	0.22	n/s	1	0.28	n/s	1	0.81	n/s
Vit.D ₃ xTCxMad.	2	0.79	n/s	2	0.93	n/s	2	0.40	n/s

De los resultados presentados en este cuadro, podemos observar que para la característica terneza, se obtuvieron diferencias significativas para los animales tratados con Vit.D₃ parenteral, tendercut, diferentes tiempos de maduración, y se vio una interacción entre tendercut y maduración.

En cuanto al sabor, los tratamientos que afectaron significativamente esta característica fueron la aplicación parenteral de Vit.D₃, TC, y diferentes tiempos de maduración.

En lo que refiere a la aceptabilidad, ésta se vio afectada por la administración parenteral de Vit.D₃, TC, y diferentes tiempos de maduración, no encontrándose diferencia significativa en las diferentes combinaciones de técnicas.

Cuadro Nº 11. Efectos de los tiempos de maduración, el método de colgado de la canal y la administración pre-faena de Vit.D₃ sobre las notas de panel sensorial de consumidores.

	Terneza (0-10)	Sabor (0-10)	Aceptabilidad (0-10)
Días de maduración	***	***	***
2	6.15 a	6.46 a	6.33 a
6	6.91 b	6.70 b	6.79 b
9	7.34 c	6.85 c	7.05 c
Método de colgado	***	***	***
Convencional	6.41 a	6.52 a	6.48 a
Tendercut	7.18 b	6.82 b	6.96 b
Adm. De Vit.D ₃	***	*	**
Control	6.60 a	6.58 a	6.58 a
Tratado	6.99 b	6.76 b	6.85 b

Diferentes letras en la misma columna difieren estadísticamente.

Tal como se puede apreciar en el cuadro Nº 11, en cuanto a temeza, sabor y aceptabilidad, quedó demostrado que la aplicación de Tendercut o la administración de Vit.D₃, tuvieron mejores valoraciones en comparación con los controles.

En lo que refiere a la maduración, a medida que aumentaron los días, se evidenció una mejoría en las notas del panel sensorial, teniendo las mejores puntuaciones las muestras maduradas por 9 días, incluso si la comparamos con las otras técnicas (tendercut y Vit.D₃).

Cuadro Nº 12. Efecto de la técnica de TC y los tiempos de maduración de la carne en los valores de terneza asignados por el panel sensorial

	Tiempo de maduración				
	2 días 6 días 9 d				
Método de colgado					
Convencional	5.60 a	6.61 a	7.17 a		
Tendercut	6.80 b	7.20 b	7.50 a		

Letras diferentes en misma columna p≤0.01

^{*=}p<0.05; **=p<0.001; ***=p<0.0001

De este cuadro se desprende que la aplicación conjunta de TC y maduración, mejoró las puntuaciones de terneza solamente para 2 y 6 días de maduración, pero no así a los 9 días, ya que ésta no difiere estadísticamente con las muestras que solamente fueron maduradas por 9 días. Además, aquí también se puede apreciar, que en valores absolutos, aplicar TC con 2 días de maduración se obtiene carnes mejores puntuadas que solamente maduradas por 6 días.

Es de destacar, que los datos obtenidos para terneza a través del panel sensorial, ratifican los resultados obtenidos a la evaluación instrumental.

9. Discusión

9.1. Evaluación Instrumental

Tal como se mencionó en los resultados del presente estudio, de las alternativas tecnológicas evaluadas las únicas que influyeron en la fuerza de corte, fue el TC y los días de maduración, evidenciándose una interacción entre ambas técnicas.

En el presente estudio la aplicación de TC disminuyó 21.5% la fuerza de corte (-1.06 Kg.). Este resultado es coincidente con los encontrados por Sorheim y col. (2001), Derbyshire y col. (2006), y Franco y col. (2007), donde la alteración del colgado en carcasas maduradas entre 24 y 48 horas, redujo la fuerza de corte en un 23, 17.6 y 11 % respectivamente. De la misma forma, Park y col. (2008), y Aalhus y col. (1999), analizando carnes maduradas por 6 y 7 días, encontraron una disminución de la fuerza de corte en un 14% para el primer autor, y en el caso de Aalhus y col. (1999), una disminución de -2,38 kg..

Este efecto se ha constatado además en otras especies como cerdos y corderos. Para la primer especie, Dransfield y col. (1991), describe que a los 3 días de maduración y con temperatura de enfriamiento de 1° C, las canales con alteración del colgado presentaban valores de fuerza de corte 16% menores que los colgados del tendón de Aquiles. Mientras que Bouton y col. (1973), encontró que las carcasas de cordero con 2 días de maduración y alteración del colgado tenían fuerzas de cortes un 38 % menor que los controles.

Al evaluar la maduración como efecto principal, encontramos que esta afectó positivamente la fuerza de corte para cada uno de los tiempos de maduración (5.27 vs. 4.15 vs. 3.73 Kg/cm² para 2, 6 y 9 días de maduración respectivamente; p<0.0001). Los mejores resultados encontrados a los 9 días de maduración, concuerdan con lo expuesto por Nishimura y col. (1998). Este autor, sugiere que el período de maduración para maximizar sus beneficios sobre la terneza, deberían ser de 10-14 días, siendo la primer semana donde los resultados son más evidentes; Smith y col. (1978), informó que para maximizar el efecto del proceso de la maduración sobre la terneza, la carne debería permanecer bajo

refrigeración por 11 días o más. Sin embargo, los mayores cambios en terneza se dan en la primer semana, período en el cual se evaluaron las tecnologías en este trabajo.

La disminución de la fuerza de corte en respuesta a la maduración, coincide con lo citado por Taylor y col. (1985), Derbyshire y col. (2006), Carrere y Chiruchi (2009), y Franco y col. (2011a).

El efecto de la maduración, se explica por una serie de transformaciones bioquímicas mediadas por enzimas proteolíticas que afectan el citoesqueleto de la fibra muscular, dando como resultado una carne más tierna (Bianchi y col. 2006). Las enzimas que intervienen en estos cambios son las catepsinas, calpainas y otras proteasas (Price, 1994).

Si bien hay mucha información que prueba que la maduración es una alternativa que mejora sustancialmente la terneza de la carne (Smith y col. 1978; Savell y col. 1981; Calkins y Seideman 1988), es necesario estudiar aquellas alternativas que tengan efecto en cortos períodos de maduración, ya que como se mencionó anteriormente, los mejores valores de terneza se dan con períodos prolongados de maduración, lo que implica un costo importante para la industria debido a que el proceso de enfriado es caro, además mantendría ocupadas las cámaras de frío, por lo que no habría capacidad de frío para realizar faenas.

En este trabajo, si bien el TC y los diferentes tiempos de maduración influyeron sobre la terneza, estas técnicas individualmente pierden relevancia al encontrarse una interacción entre ambas.

La aplicación de TC mejoró la terneza instrumental de la carne cuando se maduraron las muestras por 2 y 6 días en comparación con los controles, sin embargo a los 9 días de maduración, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Por efecto de la aplicación de TC, se lograron a los 2 días de maduración valores absolutos de fuerza de corte similares a los obtenidos por la carne de canales suspendidas por el tendón de Aquiles con 6 días de maduración (4.48 vs. 4.62 Kg/cm² para 2 y 6 días respectivamente).

En la misma línea de estudio que el presente trabajo pero con novillos Hereford x Angus, Franco y col. (2011a), encontraron datos similares, ya que la aplicación del TC tuvo un efecto aditivo a los 2 y 6 días de maduración, no siendo así con la carne madurada durante 9 días, por lo que ratifica, que con la aplicación de esta técnica no sería necesario maduraciones extensas.

Estos resultados son coincidentes con Bouton y col. (1973), que bajo condiciones de enfriamiento rápido, obtuvo niveles de terneza a los 2-3 días post-sacrificio iguales a los que se obtienen luego de 3 semanas de maduración. A su vez, Ahnstrom y col. (2009), constataron que las canales sometidas a suspensión de la pelvis después de 7 días de maduración, eran igualmente tiernas que las de 14 días suspendida por el método de

colgado tradicional.

Mientras estos autores encontraron interacción entre TC y maduración, otros como Derbyshire y col. (2006), y Franco y col. (2007), no vieron efecto alguno en la combinación de ambas técnicas. Este último autor, atribuye la falta de interacción a que los períodos de maduración eran cortos y no hubo mucha diferencia en días entre un período y el otro (3 y 7 días). Mientras tanto, Derbyshire y col. (2006), si bien no encontraron diferencias estadísticas en la combinación de estas técnicas, si vio una tendencia a que la fuerza de corte disminuya, ya que en valores absolutos la diferencia a las 24 hs es mayor que a los 7 días (1.3 vs. 0.64 Kg para 24 hs. y 7 días respectivamente).

Esta disminución en la fuerza de corte por la aplicación de TC, se acompañó con un aumento en la longitud de sarcómero (2.0 vs.1.66 µm para TC y control respectivamente). Ha sido demostrado una fuerte correlación negativa entre longitud de sarcómero y fuerza de corte cuando estos son menores a 2 µm, disminuyendo dicha relación a medida que aumenta su longitud (Herring y col., 1967; Bouton y col., 1973). Diferentes estudios mencionan que dicha correlación se encontraría entre valores de r -0.34 a -0.80 (Herring y col., 1965; Hostetler y col. 1972; Wang y col. 1994). Según Davey y col. (1967), los músculos que entran en rigor mortis estando extendidos, sus filamentos de actina y miosina apenas interpenetran, formando así pequeñas cantidades de actomiosina, al evitar esta unión, se favorece una mejoría en la terneza de la carne.

En el presente experimento, la aplicación de TC aumentó la longitud de sarcómero en un 20.5 %. Estos resultados son similares a los publicados por Eikelemboom y col. (1998) donde reportaron un aumento de 21 %, Claus y col. (1997), 32 %, Franco y col. (2007), 12 %, Park y col. (2008), 18 %, Aalhus y col. (1999), 20%, Derbyshire y col. (2006), 7.5 %, y Franco y col. (2011a), 27%; Esto concuerda con lo expuesto por Sorheim y col. (2002), donde menciona que estirar el músculo de 10 a 20 % es suficiente para que sea beneficioso para la terneza de la carne.

Contrario a lo expresado anteriormente, Ludwig y col. (1997) reportó un aumento del 20 % en la longitud de sarcómero que no se reflejó en una disminución en la fuerza de corte, pero como se discutirá más adelante, a la evaluación sensorial, este autor si encontró mejores puntuaciones para terneza.

Para el caso de la administración parenteral de Vit.D₃ y todas sus combinaciones con las demás técnicas evaluadas, éstas, no afectaron la fuerza de corte. Este resultado, es similar a lo publicado por Hill y col. (1999), Scanga y col. (2001), Rentfrow y col. (2001), y De Moura (2002), con suplementación oral de Vit.D₃, y Franco y col. (2007) administrando de forma parenteral Vit.D₃. Dichos autores, no encontraron efecto alguno sobre la fuerza de corte.

Sin embargo para Swanek y col. (1999), Rider Sell y col. (2004), Karges² y col. (2001), Montgomery y col. (2002), Montgomery y col. (2004), y Duckett y col. (2001), utilizando niveles similares de suplementación oral de Vit.D₃, y Feed y col. (2002a), mediante inyección parenteral de dicha vitamina, encontraron que la fuerza de corte disminuyó cuando se maduró la carne durante 7 días; Montgomery y col. (2000) y Karges¹, y col. (2001), también con suplementación oral, obtuvieron resultados similares a los anteriores pero cuando maduraron las muestras por 14 días.

Como se puede observar, la respuesta de la administración de Vit.D₃ sobre la terneza de la carne es muy heterogénea.

Una posible explicación para la falta de efecto de la Vit.D₃ sobre la terneza, estaría relacionada a que las muestras utilizadas no son consideradas extremadamente duras (4.38 kg promedio de las muestras controles). Según Karges y col. (1999) y Montgomery y col. (2000), la mejora en la terneza de la carne por el uso de Vit.D₃, ocurre fundamentalmente en animales con alta dureza inicial y no en carnes inherentemente tiernas. En este sentido, Strydom y col. (2011), evaluó animales tratados con Zilpaterol (promotor de crecimiento con efecto deletéreo sobre la terneza), y encontró que la suplementación de Vit.D₃ tuvo un efecto benéfico sobre la terneza instrumental.

La gran variabilidad de resultados encontrados por efecto de administración de la Vit.D₃, podría estar explicado a que las vías de administración fueron diferentes para los distintos trabajos consultados, como parenteral, intraruminal, y suplementación oral en la ración, siendo esta última la más estudiada y por lo tanto las dosis y los tiempos de suplementación son más variados.

La utilización de EE no tuvo efecto sobre la fuerza de corte, no logrando tampoco un efecto aditivo en combinación con ninguna de las técnicas evaluadas. Esto podría estar explicado entre otras causas a que la EE es efectiva cuando es aplicada en carcasas que producen carnes más duras (Cross 1979 y Strydom y col. 2011).

La ausencia de efectos aditivos, son coincidentes con los encontrados por Franco y col. (2011a), utilizando los mismos tratamientos del presente estudio, mientras que Carrere y Chiruchi, (2009), no encontró efecto aditivo al evaluar la EE con 3 y 7 días de maduración. Ambos autores no vieron efecto de la EE en combinación con otras técnicas; sin embargo este último autor, al igual que, Solomon y col. (1983), Crouse y col. (1983), Koh y col. (1987), y Hawrysh y col. (1987), encontró que la EE de por sí sola disminuyó la fuerza de corte.

Cabe destacar, que en el presente estudio se trabajó bajo condiciones de enfriamiento habitualmente encontradas en un frigorífico, se utilizó EE de bajo voltaje durante 30 segundos y los animales utilizados presentaban un grado de terminación aceptable (4.2±2 mm espesor de grasa dorsal en la 10^a costilla). Dado esto, podríamos suponer que las condiciones para que se produzca el acortamiento por frío no estaban dadas, por lo tanto, esto explicaría la falta de efecto al aplicar EE. También es de destacar que Crouse y col.

Karges¹: 6x10⁶ UI de Vit.D₃ por 4 días Karges²: 6x10⁶ UI de Vit.D₃ por 6 días (1983), y Solomon y col. (1983), utilizaron EE de alto voltaje, donde su mayor efecto es el daño físico que sufre la miofibrilla al contraerse el músculo, traduciéndose esto en una mejora en la terneza.

Diferentes autores obtuvieron resultados que indican que la aplicación de EE en conjunto con tiempos de maduración *post mortem*, influye de manera positiva sobre la fuerza de corte. Taylor y col. (1985) y Derbyshire y col. (2006), encontraron que la fuerza de corte disminuyó cuando se aplicó EE+maduración. Este último autor encontró una disminución en la fuerza de corte de 31.7% a las 24 hs. y 25.4% a los 7 días de maduración.

Por otra parte, Strydom y col. (2011), menciona que animales tratados con Zilpaterol, la interacción de EE y maduración durante 3 y 7 días, tiene un efecto aditivo mejorando los valores de fuerza de corte. Sin embargo no se evidenció efecto de interacción cuando se combinó EE + Vit.D₃. Al evaluar el efecto principal de cada una de estas técnicas, se vio efecto en la mejora de la terneza en los animales tratados con Zilpaterol; pero el uso de la EE por sí sola, tiene mejores beneficios que la administración de Vit.D₃.

Solamente 2 estudios anteriores reportan el uso de EE en combinación con Vit.D₃ (Lawrence y col. 2006, y Tipton y col. 2007), pero solamente Tipton y col. (2007), identificaron una pequeña ventaja con el uso de estas técnicas, encontrando una disminución de la fuerza de corte de 0.3 a 0.4 Kg. al compararlos con los controles.

La utilización de EE no tuvo efecto sobre la fuerza de corte, no logrando un efecto aditivo con la utilización de la técnica de TC. Estos resultados son coincidentes con lo reportado en la bibliografía en donde se concluye que el efecto aditivo de la EE y la técnica de alteración del colgado, es bajo o nulo (Dransfield y col. 1991; Eikelenboom y col. 1998; Aalhus y col. 2000; Derbyshire y col. 2006).

La falta de interacción entre TC y EE podría estar explicada a que el efecto de ambas técnicas es similar. La EE evita el acortamiento del músculo a temperaturas bajas de refrigeración, y el TC provoca un estiramiento de las fibras musculares, por lo tanto, independiente de la temperatura de refrigeración, es de esperar que generalmente predomine la acción del TC sobre la EE.

En lo que refiere a PPC, la administración parenteral de Vit.D₃ fue la única técnica evaluada que influyó positivamente sobre esta característica. Según la revisión bibliográfica presentada en éste trabajo, Savell y col. (1978) y Karges y col. (2001) fueron los únicos investigadores en evaluar esta característica. Este último, al suplementar con Vit.D₃ obtuvo datos similares a los presentados en este trabajo.

En tanto Savell y col. (1978), encontró que las PPC aumentaron cuando se EE y maduró la carne.

Simmons y col. (2008), menciona que la EE afectaría positivamente las propiedades relacionadas con la capacidad de retención de agua, sin embargo, nuestros resultados y los encontrados por Savell y col. (1978), no concuerdan con esta aseveración.

9.2. Evaluación Sensorial

9.2.1. Terneza

Según Caine y col. (2003), existe una correlación negativa entre los valores de fuerza de corte y el panel sensorial cuando se evalúa la terneza de la carne, con valores de r entre -0.32 a -0.94. Esta variabilidad depende de muchos factores como el tipo de músculo, preparación de la muestra, método de cocinado, el aparato medidor de fuerza de corte, los métodos de medición de los procedimiento y el tipo de panel (Destefanis y col. 2007).

Los resultados obtenidos por el panel sensorial, corroboran los resultados de la evaluación instrumental en donde el TC y la maduración mejoraron la terneza, además se evidenció una interacción entre TC y maduración.

Si bien la administración parenteral de Vit.D₃ no tuvo efecto sobre la fuerza de corte, a la evaluación sensorial los integrantes del panel, calificaron a estas carnes como más tiernas. Resultados similares fueron descriptos por De Moura (2002), Franco y col. (2007) y Franco y col. (2011b), los cuales trabajaron con novillos de razas cebuina, holando y británicos, para maduraciones entre 2 y 10 días y con métodos de suministro de la Vit.D₃ de forma oral en la ración y administración parenteral pre faena respectivamente.

Swanek y col. (1999), y Montgomery y col. (2004), suplementando con Vit.D₃ oral en la ración y Duckett y col. (2001), administrando Ca⁺⁺ intraruminal, encontraron que la disminución en la fuerza de corte se tradujo en una mejor puntuación en la terneza sensorial.

Contrario a lo anterior, Karges, y col. (2001), Rider Sell y col. (2004), y Montgomery y col. (2000), Montgomery y col (2002), también con suplementación de Vit.D₃, vieron que la disminución en la fuerza de corte no se vio reflejada en la terneza sensorial.

Como se mencionó anteriormente la aplicación de TC, disminuyó la fuerza de corte. Esto se vio reflejado en el panel de consumidores, donde al evaluar el uso del TC como efecto principal, la terneza resultó mejor puntuada que las muestras controles (7.18 vs. 6.41 para TC y control respectivamente). Varios autores reportaron resultados similares a los descritos anteriormente. En el caso de Aalhus y col. (1999), la aplicación de TC mejoró la puntuación de terneza, encontrando que con ésta técnica se obtuvieron valores de 5.78 vs. 5.13 para TC y controles respectivamente; Sorheim y col. (2001), describe valores de 5.9 y 3.9 para las muestras TC y control respectivamente; Franco y col (2007), reportó valores de 7.6 vs. 7.1. Este mismo autor en el año 2011, obtuvo valores de terneza de 6.38 TC y 5.54

los controles; Por último Park y col (2008), aplicando TS, reportó valores de 71.5 vs. 62.4 para TS y control.

Al igual que lo encontrado en la evaluación instrumental, la maduración de por sí sola mejoró las puntuaciones de terneza para 2, 6 y 9 días de maduración (6.15 vs. 6.91 vs. 7.34; p<0.0001).

A pesar de encontrar efecto positivo sobre la terneza con la aplicación de ambas técnicas (TC y maduración), nuevamente estas pierden relevancia al haberse encontrado una interacción entre ambas.

Esta interacción constató que las muestras de 2 y 6 días fueron mejor evaluadas que los controles (6.8 vs. 5.6 para 2 días de maduración; 7.2 vs. 6.61 para 6 días de maduración; p< 0.01), no encontrándose diferencia a los 9 días de maduración. Estos resultados reflejan lo obtenido en la evaluación instrumental.

Resultados similares describió Ludwig y col. (1997), donde a pesar de no encontrar efecto de la interacción sobre fuerza de corte, si observó una mejor puntuación del panel sensorial para terneza a los 3 días de maduración (6.5 vs. 5.6; p< 0.05), pero no a los 10 días (6.7 vs 6.3; p>0.05).

La utilización de la técnica de TC mejoró la terneza de la carne cuando esta fue madurada durante 2 días, obteniendo valores absolutos similares a los obtenidos a los 6 días con colgado tradicional (6.8 TC+2d. vs. 6.61 para 6d.). Esto es coincidente con lo expuesto por Ludwig y col. (1997), O'halloran y col. (1998) y Ahnstrom y col. (2009). El primer autor encontró que las muestras procedentes de TC+3 días de maduración, no diferían estadísticamente de las muestras control con 10 días de maduración. Para O'halloran y col. (1998), las muestras maduradas por 24 hs. y TS, son estadísticamente iguales a las maduradas durante 14 días sin TS. Ahnstrom y col. (2009), encontró que las muestras maduradas por 7 días + TS, eran iguales a las de 14 días sin TS.

Este hallazgo es importante resaltar, ya que a nivel industrial para minimizar pérdidas económicas debido a que el proceso de enfriamiento es caro, no se realizan maduraciones óptimas y se congela la carne entre 48 y 60 hs. post faena. Por lo tanto, la aplicación de esta técnica permite tener carnes con niveles de terneza similares a aquellas maduradas por periodos más extensos.

En cuanto al uso de EE, ésta y sus combinaciones no tuvieron efecto en la terneza del la carne.

Como ya se mencionó anteriormente, el uso de EE sería efectivo sobre la terneza al acelerar la glucólisis y así evitar el acortamiento por frio en canales con poca cobertura grasa bajo condiciones de enfriamiento rápido e intenso (Price, 1994). Si bien en el presente trabajo no

se midieron las condiciones de almacenamiento de las canales, suponemos que no eran las propicias para que dicho fenómeno sucediera; esto, sumado a que el espesor de grasa a nivel de la 10^a costilla era aceptable (4.2 \pm 2 mm), podría explicar la falta de respuesta a esta técnica.

Los resultados del presente estudio, son coincidentes con lo descrito por Aalhus y col. (2000), donde estudiando el efecto comparativo del uso de la EE y la técnica de tendercut sobre la terneza de la came, encontró un mayor efecto de la técnica de TC sin ningún beneficio al combinarlo con EE; sin embargo la EE evaluada individualmente, si influyó positivamente sobre la terneza sensorial. Carrere y Chiruchi (2009), evaluando esta misma técnica individualmente, también obtuvieron una mejora en la terneza.

En otro sentido, Franco y col. (2011b), encontró interacción entre la combinación de TC+EE y TC+Vit.D₃, pero a su vez, el solo uso del TC y la interacción entre las 3 técnicas, fueron las que recibieron las mejores puntuaciones.

9.2.2. Sabor

El sabor surge de las sustancias volátiles de la carne que estimulan el sentido del olfato, y también de las sustancias volátiles solubles que se liberan en la boca cuando la carne es masticada. De este modo, los mensajes que alcanzan el cerebro son responsables de la sensación de sabor que se originan de los 2 diferentes órganos sensitivos (Jiménez de Aréchaga y col. 2002)

Para este atributo, tal como se aprecia en el cuadro Nº 10, de las tecnologías aplicadas, el TC, la Vit.D₃ y la maduración fueron las que mejoraron las puntuaciones al compararlas con los controles, no evidenciándose efecto con la aplicación de EE, ni interacción entre las combinaciones de técnicas. El efecto de la administración de Vit.D₃ (p<0.05) sobre el sabor de la carne, fue menor a los alcanzados por la utilización de TC y los tiempos de maduración (p<0.0001).

Comparando estos resultados con aquellos autores que realizaron evaluación sensorial, nuestros resultados coinciden con Swanek y col. (1999). Mientras que Rider Sell y col. (2004), Karges y col. (2001), Montgomery y col. (2000), y Montgomery y col. (2004), no encontraron efecto sobre el sabor cuando suplementaron con Vit.D₃.

El TC de por sí solo mejoró las puntuaciones de sabor (6.52 control vs. 6.82 TC; p≤0.0001). Los antecedentes encontrados con el uso del TC en el sabor de la carne son contradictorios. Aalhus y col. (1999) y Ahnstrom y col. (2009), no encontraron mejora en la calidad del sabor por el uso de TC en carnes maduradas por 7 y 14 días. Sin embargo, Park y col. (2008), reportaron efecto positivo en carnes con 7 días de maduración.

Aalhus y col. (2000), analizando la combinación de TC y EE, señala que la mejora del sabor por la combinación de ambas técnicas resultó equivalente a la utilización de cualquiera de las técnicas en forma aislada.

Al evaluar el efecto de la maduración a los 2, 6 y 9 días, se encontró que a medida que pasan los días, las puntuaciones de sabor aumentaron (6.46 vs. 6.70 vs. 6.85; p≤0.0001). Esto concuerda con lo publicado por Carrere y Chiruchi (2009), donde las muestras maduradas por 7 días fueron mejor puntuadas que las de 3 días de maduración.

La maduración provoca una alteración de la estructura muscular resultando en la formación de componentes precursores del aroma y flavor. El tiempo de maduración es un componente fundamental en el desarrollo de los precursores del sabor de la carne, alcanzando valores óptimos a los 11 días de maduración (Smith y col. 1978), y posteriormente con el cocinado se originan los compuestos volátiles responsables del aroma, y no volátiles responsables del sabor (Nishimura y col. 1988).

9.2.3. Aceptabilidad

La aceptabilidad de un producto es un atributo que se mide a través de una prueba subjetiva, donde el individuo expresa si le gusta, disgusta y/o si prefiere un producto a otro. El concepto de aceptabilidad está formado por varios atributos diferentes (sabor, terneza, aroma, jugosidad). Sin embargo para el consumidor, dentro de este conjunto de atributos la terneza es la que tiene mayor peso relativo y es más determinante a la hora de evaluar la aceptabilidad global de un producto (Franco, 10/7/2012 comunicación personal).

La intensidad de los estímulos es variable debido a la adaptación sensorial, dilución e interacción a lo largo del proceso de degustación, determinando que solo a partir de un determinado umbral de terneza es posible apreciar otras cualidades sensoriales como la aceptabilidad de la carne (Bianchi y Feed, 2010).

En el presente trabajo, de las alternativas tecnológicas evaluadas, la aplicación de TC, la administración parenteral de Vit.D₃, y la maduración, tuvieron un efecto positivo sobre la aceptabilidad, no encontrándose efecto con la EE, ni con la combinación de las técnicas.

La falta de efecto de la EE sobre este atributo, era de esperarse, ya que esta técnica no mejoró las puntuaciones de sabor ni terneza, y como ya se mencionó, esta última, tiene un mayor peso relativo sobre este atributo.

De la bibliografía consultada, los autores que evaluaron aceptabilidad tales como Montgomery y col. (2000), Rider Sell y col. (2004), Franco y col. (2007), Carrere y Chiruchi (2009), encontraron coincidencia entre la aceptabilidad y la terneza sensorial (al mejorar terneza, mejora la aceptabilidad; cuando no hay efecto en la terneza tampoco lo hay en aceptabilidad), lo que refuerza aún más el concepto de que la aceptabilidad está influenciada en gran parte por la terneza.

10. Conclusiones

- La técnica de alteración de colgado de la canal, tendercut, disminuyó los valores de fuerza de corte en períodos breves de maduración (2 y 6 días), pero no a los 9 días.
- Los valores de fuerza de corte cuando se aplicó tendercut a los 2 días de maduración, fueron similares a los encontrados con maduraciones por 6 días y sin aplicación de tendercut.
- La disminución en la fuerza de corte por la aplicación del tendercut, fue acompañada con un aumento de la longitud de sarcómero del 20.5%, pasando de 1.66 a 2 μm.
- En cuanto a terneza, el panel sensorial corroboró lo encontrado a nivel instrumental otorgando mejores puntuaciones a aquellas muestras a las que se utilizó el tendercut en 2 y 6 días de maduración, pero no en 9 días post mortem.
- La calidad del sabor se vio mejorada principalmente por el uso del tendercut y por los días de maduración p<0.0001, y en menor medida por la administración de vitamina D₃ p<0.05.
- La aplicación de tendercut, maduración, y vitamina D₃, mejoró las puntuaciones de aceptabilidad.

11. Bibliografía

- 1) Aalhus, J., Best, D., Costello, F., Jeremiah, L. (1999). A simple, on line processing method for improving beef tenderness. Can. J. Anim. Sci. 79: 27-34.
- Aalhus. J. L., Larsen, I. L., Dubeski, P. L., Jeremiah, L. E. (2000). Improved beef tenderness using a modified on-line carcass suspension method with, or without low voltage electrical stimulation. Can. J. Anim. Sci. 80: 51-58.
- 3) Ahnström, M. L. (2008). Influence of Pelvic Suspension on Beef Meat Quality. Tesis de doctorado. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. Suecia. 75 p.
- 4) Ahnström, M. L., Hessle, A., Johansson, L., Hunt, M. C., Lundström, K. (2009). Influence of carcass suspension on meat quality of Charolais heifers from two sustainable feeding regimes. Animal 3(6): 906-913.
- 5) Barriada, M. (1995). Variables que determinan la calidad de la canal y de la carne en vacunos. Bovis. 66: 95-112.
- 6) Bandman, E., Zdanis. D. (1988). An immunological method to assess protein degradation in postmortem muscle. Meat Sci. 22: 1-19.
- 7) Bianchi, G., Bentancur, O., Sañudo, C. (2006). La maduración de la carne de cordero como una herramienta para mejorar su terneza y calidad sensorial. Rev. Arg. Prod. Anim. 26: 39-55.
- 8) Bianchi, G., Feed, O.D. (2010). Introducción a la ciencia de la carne. Montevideo: Hemisferio Sur. 551 p.
- 9) Bickerstaffe R. (1996). Proteasas and meat quality. Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod. 27: 71-77.
- 10) Boccard, R., Naude, R.T., Croje, D.E., Smit, M.C., Venter, H.J., Rossouw, E.J. (1979). The influence of age, sex and breed of cattle on their muscle characteristics. Meat Sci. 3: 261-280.
- 11) Boehm, M. L., Kendall, T. L., Thompson, V. F. (1998). Changes in the calpains and calpastatin during postmortem storage of bovine muscle. J. Anim. Sci. 76: 2415–2434.
- 12) Bouton P. E, Fisher A. L., Harris P. V., Baxter R. I. (1973). A comparison of the effects of some post-slaughter treatments on the tenderness of beef. J. Food Sci. Tech. 8(1): 39-49.

- 13) Caine, W. R., Aalhus, J. L., Best, D. R., Dugan, M. E. R., Jeremiah, L.E. (2003). Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks. Meat Sci. 64: 333-339.
- 14) Calkins, C. R., Seideman, S. C. (1988). Relationships among calcium-dependent protease, cathepsins B and H, meat tenderness and the response of muscle to aging. J. Anim. Sci. 66: 1186–1193.
- 15) Carrere, M., Chiruchi, J. (2009). Efecto de la estimulación eléctrica de la canal, sobre la calidad instrumental y sensorial de la carne de novillos Hereford en pastoreo. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. Montevideo. Uruguay. 81 p.
- 16) Chrystall, B. B., Devine, C. E., Davey, C. L. (1980). Studies in electrical stimulation; postmortem decline in nervous response in lambs. Meat Sci. 4: 69-78.
- 17) Claus, J. R., H. Wang, N. G. Marriott. (1997). Prerigor carcass muscle stretching effects on tenderness of grain-fed beef under commercial conditions. J. Food Sci. 62:1231-1243.
- 18) Cross, H. R. (1979). Effects of electrical stimulation on meat tissue and muscle properties; a review. J. Food Sci. 44 (2): 509-523.
- 19) Crouse, J. D., Seideman, S. C, Cross, H. R. (1983). The effects of carcass electrical stimulation and cooler temperature on the quality and palatability of bull and steer beef. J. Anim. Sci. 56: 81-90.
- 20) Davey, C. L., Gilbert, K. V. Carse, W. A. (1976). Carcass electrical stimulation to prevent cold-shortening toughnes in beef. N.Z. J. Agri. Res. 19: 13.
- 21) Davey, C. L., Kuttel, H., Gilbert, K. V. (1967). Shortening as a factor in meat ageing. J. Food Tech. 2: 53-60.
- de Boland, A. R., Nemere, I. (1992). Rapid actions of vitamin D₃ compounds. J. Cell. Biochem. 49: 32–36.
- 23) DeLuca, H. F. (1979). The vitamin D₃ system in the regulation of calcium and phosphorus metabolism. Nutr. Rev. 37: 161–193.
- 24) De Moura Silveira Pedreira, C. A. (2002). Características qualitativas do músculo L. dorsi de animais Bos indicus tratados com Vitamina D₃. Tesis de grado. Escuela superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba. Brasil. 45 p.
- Derbyshire, W., Lues, J.F.R., Joubert, G., Shale, K., Jacoby A., Hugo A. (2006). Effect of electrical stimulation, suspension method and aging on beef tenderness of the Bonsmara breed. J. Musc. Foods. 18: 207–225.

- Destefanis, G., Brugiapaglia, A., Barge, M.T., Dal Molin, E. (2008). Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner-Bratzler shear force. Meat Sci.78: 153-156.
- Dikeman, M., Dayton, A. D. Hunt, M. C. (1990). Conventional versus accelerated beef production with carcass electrical stimulation. J. Anim. Sci. 61: 573-583.
- 28) Dransfield, E., Jones, R. C., MacFie, H. H. (1980). Quantifying changes in tenderness during storage in beef. Meat Sci. 5: 131-137.
- 29) Dransfield, E., Ledwith, M.J., Taylor, A. (1991). Effect of electrical stimulation, hip suspension and ageing on quality of chilled pig meat. Meat Sci. 29:129-139.
- 30) 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 and tenderness. Can. J. Anim. Sci. 81: 33-38.
- 31) Eikelenboom, G., Barnier, V. M. H., Hoving-Bolink, A. H., Smulders, F. J. M., Culioli, J. (1998). Effect of pelvic suspension and cooking temperature on the tenderness of electrically stimulated an aged beef, assessed with shear and compression tests. Meat Sci. 49 (1): 89-99.
- 32) Fapohunda, A. O. I., Okubanjo, A. (1987). An assessment of the effects of an alternative method of carcass suspension and conditioning on the tenderness of beef. Meat Sci. 19: 293–301.
- 33) Faustman, C. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat; a review. J. Musc. Foods. 1: 217-243.
- 34) Feed, O., Franco, J. (2002a). Efecto de la Administración de Vit.D₃ sobre la terneza de la carne de vacunos en pastoreo. Jornadas de Producción Animal. Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario. Rev. Esp. ITEA. 99 (1): 41-46.
- 35) Feed, O.; Franco J; García; Krall, E. (2002b). Efecto de la administración parenteral de vitamina D3 sobre los niveles de calcio sérico en vacas Hereford en pastoreo. XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría. X Congreso Latinoamericano de Buiatría. Centro Médico Veterinario de Paysandú. Paysandú. Uruguay. p. 207-208.
- Forrest, J.C., Aberle, E.D., Hedrick, H.B., Judge, M.D., Merkel, R.A. (1979). Fundamentos de la ciencia de la carne. Zaragoza: Acribia. 364 p.
- 37) Franco, J., Feed, O., Garibotto, G., Ballesteros, F., Forichi, E., Bentancur, O. Bianchi, G. (2007) Efecto del "tendercut", vitamina D₃ y maduración sobre la textura y calidad sensorial de la carne vacuna. Re. Rev. Arg. Prod. Anim. 28 (1): 52-58.

- 38) Franco, J., Feed, O., Franci, M., Bianchi, G., Garibotto, G., Bentancur, O. (2011a). Efecto de la combinación de técnicas ante y post mortem sobre la terneza y el color de la carne vacuna. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. XV Congreso Latinoamericano de Buiatría. Paysandú. Uruguay. p. 208-210.
- Franco, J., Bianchi, G., Feed, O., Garibotto, G., Bentancur, O. (2011b). Impacto de alternativas tecnológicas pre y post-mórtem sobre la calidad de la carne vacuna. II. Evaluación sensorial. Rev. Arg. Prod. Anim. (En Prensa).
- 40) Guerrero, L. (2000). Determinación sensorial de la calidad de la carne. En: Guerrero, L. Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. Ministerio de Ciencia y Tecnología INIA. Madrid. p. 207-220.
- 41) Geesink, G. H.; Koohmaraie, M. (1999). Effect of Calpastatin on Degradation of Myofibrillar Proteins by μ-Calpain under Postmortem Conditions. J. Anim. Sci. 77: 2685-2692.
- 42) Goll, D.E., Thompson, V. F., Li, H. Q., Wei, W., Cong, J. Y. (2003). The calpain system. Physiol. Rev. 83: 731-801.
- 43) Goll, D. E., Thompson, V. F., Taylor, R. G. (1992). Role of the calpain system in muscle growth. Biochimie. 74: 225–237.
- 44) Göransson, A., Flores, M., Josell, A., Toldrá, F. (2000). Effects of electrical stimulation on the tenderness of beef- An investigation of proteolysis and meat quality. 46th International Congress of Meat Science and Technology. Buenos Aires. Argentina. p. 438-439.
- 45) Graafhuis, A. E., Lovatt, S. J., Devine, C. E. (1992). A predictive model for lamb tenderness. Proceedings of the 27th Meat Industry Research Conference. Hamilton. New Zealand. p. 143–147.
- Hawrysh, Z. J., Shand, P. J., Wolfe, F. H, Price, M. A. (1987). Studies of extra low voltage electrical stimulation of mature beef carcasses. Meat Sci. 21: 121-135.
- 47) Herring, H. K., Cassens, R. G., Briskey, E. J. (1965). Further studies on bovine muscle tenderness as influenced by carcass position, sarcomere length, and fiber diameter. J. Food Sci. 30: 1049–1054.
- 48) Herring, H. K., Cassens, R. G., Suess, G. G., Brungardt, V. H., Briskey, E. J. (1967). Tenderness and associated characteristics of stretched and contracted bovine muscles. J. Food Sci. 32: 317-323.
- 49) Hibbs, J. W., Kraus, W. E., Pounden, W. D., Monroe, C. F., Sutton, T. S. (1946). Studies on milk fever in dairy cows. II. The effect of vitamin D₃ on some of the blood changes in normal and milk fever cows at parturition. J. Dairy Sci. 29: 767-

- 50) Hibbs, J. W., Pounden, W. D. (1955). Studies on milk fever in dairy cows. IV. Prevention by short-time prepartum feeding of massive doses of vitamin D₃. J. Dairy Sci. 38: 65-72.
- 51) Hibbs, J. W., Pounden, W. D., Krauss, W. E. (1951). Studies on milk fever in dairy cows. III. Further studies on the effect of vitamin D on some of the blood changes at parturition and the composition of colostrum in normal and milk-fever cows. J. Dairy Sci. 34: 855–864.
- 52) Hill, G. M., Brito, G., Pringle, T. D., Williams, S. E. (1999). Performance, plasma Ca, P and Mg, carcass characteristic, and meat tenderness in beef steers fed high levels of vitamin D₃. J. Anim. Sci. 77 (1): 18-19.
- 53) Horst, R. L., Littledike, E.T., Riley, J.L., Napoli, J.L. (1981). Quantitation of vitamin D and its metabolites and their plasma concentration in five species of animals. Anal. Biochem. 116: 189–203.
- Horst, R. L., Reinhardt, T. A. (1983). Vitamin D₃ Metabolism in Ruminants and its Relevance to the Periparturient cow. J. Dairy Sci. 66: 661-678.
- 55) Hostetler, R. L., W. A. Landmann, B. A., Link, H. A. Fitzhugh, Jr. (1970). Influence of carcass position during rigor mortis on tenderness of beef muscles: Comparison of two treatments. J. Anim. Sci. 31: 47–50.
- 56) Hostetler, R. L., B. A. Link, W. A. Landmann, H. A. Fitzhugh, Jr. (1972). Effect of carcass suspension on sarcomere length and shear force of some major bovine muscles. J. Food Sci. 37: 132–135.
- 57) Hostetler, R. L., B. A. Link, W. A. Landmann, H. A. Fitzhugh, Jr. (1973). Effect of carcass suspension method on sensory panel scores for some major bovine muscles. J. Food Sci. 38: 264–267.
- 58) Hwang, I. H., Thompson, J. M. (2001). The interaction between pH and temperature decline early postmortem on the calpain system and objective tenderness in electrically stimulated beef *Longissimus dorsi* muscle. Meat Sci. 58(2): 167–174.
- 59) INIA Tacuarembó. (2002). Seminario de actualización técnica. Cruzamientos en Bovinos para carne. Serie de actividades de difusión INIA Nº 295. 85 p.
- 60) INIA, INAC, CSU. (2003). Auditoria de Calidad de la Carne Vacuna. "Un compromiso de mejora continua de la calidad de la carne vacuna del Uruguay".23 p.

- 61) Jaime, I., Beltrán, J.A., Sena, P., Lopez-Lorenzo, P., Roncales, P. (1992). Tenderization of lamb meat: effect of rapid post mortem temperature drop on muscle conditioning and aging. Meat Sci. 32: 357-366.
- 62) James, S. J., James, C. (2002). Meat refrigeration. Cambridge. Whoodhead. 347 p.
- 63) Jeremiah, L. E., Martin, A. H., Achtymichuk, G. (1984). The effects of delayed chilling and altered carcass suspension upon beef muscle: I. Physical and textural properties. J. Food Qual. 6: 259–271.
- 64) Jimenez de Aréchaga, C., Pravia, M. I., Xavier, M. (2002). Caracterización de la terneza en el proceso de producción de carne vacuna en el uruguay y su predicción utilizando las principales variables pos-mortem; ph, temperatura y color. Tesis de grado. Facultad de Agronomia. Montevideo. Uruguay. 134 p.
- 65) Karges, K., Brooks, J. C., Gill, D. R., Breazile, J. E., Owens F. N., Morgan J. B. (2001). Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers. J. Anim. Sci. 79: 2844-2850.
- 66) Koh, K. C., Bidner, T. D., McMillin, K. W., Hill, G. M. (1987). Effects of electrical stimulation and temperature on beef quality and tenderness. Meat Sci. 21: 189-201.
- Koohmaraie, M. (1988). The role of endogenous proteasas in meat tenderness. Rec. Meat Conf. Proc. 41: 89
- 68) Koohmaraie, M. (1994). Muscle proteinases and meat aging. Meat Sci. 32: 93-104.
- 69) Koohmaraie M., (1996). Biochemical factors regulation the toughenig and tenderization process of meat. Meat Sci. 43: 193-201.
- 70) Koohmaraie, M., Doumit, M. E., Wheeler, T. L. (1996). Meat toughening does not occur when rigor shortening is prevented. J. Anim. Sci. 74: 2935-2942.
- 71) Koohmaraie, M., Geesink. G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. Meat Sci. 74: 34-43.
- 72) Lawrie, R.A. (1998). Ciencia de la carne. 3ª ed. Zaragoza. Acribia. 367 p.
- 73) Lawrence, R. W., Doyle, J., Elliot, R., Loxton, I., McMeniman, J. P., Norton, B. W. (2006). The efficacy of a vitamin D₃ metabolite for improving the myofibrillar tenderness of meat from Bos indicus cattle. Meat Sci. 72: 69-78.

- 74) Lawrence, T. E., Whatley, J. D., Montgomery, T. H., Perino, L. J., y Dikeman, M. E. (2001). Influence of dental carcass maturity classification carcass traits and tenderness *Longissimus* steaks from commercially feed cattle. J. Anim. Sci. 79: 2092-2096.
- 75) Littledike, E. T., Horst, R. L. (1982). Vitamin D₃ toxicity in dairy cattle. J. Dairy Sci. 65: 749–759.
- 76) Locker, R. H. (1960). Degree of muscular contraction as a factor in tenderness of beef. Food Res. 25: 304–307.
- 77) Locker, R.H., Davey, C.L., Nottingham, P.M., Haughey, D.P., Law, L.H. (1975). New concepts in meat processing. Adv. Food Res. 21: 157-222.
- 78) Locker, R. H., Hagyard, C. J. (1963). A cold shortening effect in beef muscles. J. Sci. Food Agric. 14: 787-793.
- 79) Ludwig, C. J., Claus, J. R., Marriott, N. G., Johnson, J., Wang, H. (1997). Skeletal alteration to improve beef longissimus muscle tenderness. J. Anim. Sci. 75: 2404–2410.
- 80) Mamaqui, E. N. (1996). Influencia de la raza de terneros y del tipo de pienso en los parámetros productivos y en calidad de la carne. Master en Ciencia. Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza. Zaragoza. España. 241 p.
- 81) Marsh, B. B. (1986). The tenderizing mechanisms of electrical stimulation. Proceedings of International Institute of Refrigeration (IIF-IIR) commission Bristol, United Kingdom C2: 75–81.
- 82) Monin, G. (1991). Factores biológicos de la calidad de la carne bovina. INRA. Prod. Anim. 4(2): 35-47.
- 83) Monsón, F. (2004). Calidad de la came de cuatro razas de vacunos a lo largo de la maduración. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragaoza. Zaragoza. España. 249 p.
- 84) Montgomery, J. L., Carr, M. A., Kerth, C. R., Hilton, G. G., Price, B. P., Galyean, M. L., Horst, R. L., Miller, M. F. (2002). Effect of vitamin D₃ supplementation level on the *postmortem* tenderization of beef from steers. J. Anim. Sci. 80: 971–81.
- 85) Montgomery, J. L., Galyean, M. L., Horst, R. L., Morrow, K. J., Blanton, Jr. J. R., Wester, Jr. D. B., Miller, M. F. (2004). Supplemental vitamin D3 concentration and

- biological type of beef steers. I. Feedlot performance and carcass traits. J. Anim. Sci. 82: 2050-2058.
- Montgomery, J. L., King, M. B., Gentry, J. G., Barham, A. R., Barham, B. L., Hilton, G. G., Blanton, Jr. J. R., Horst, R. L., Galyean, M. L., Morrow, Jr. K. J., Wester, D. B., Miller. M. F. (2004). Supplemental vitamin D₃ concentration and biological type of steers. II. Tenderness, quality, and residues of beef. American Soc. Anim. Sci. 82 (7): 2092-2106.
- 87) Montgomery, J. L., Parrish, Jr., F. C., Beitz, D. C., Horst, R. L., Huff-Lonergan, E., Trenkle. A. H. (2000). The use of vitamin D3 to improve beef tendemess. J. Anim. Sci. 78: 2615–2621.
- 88) Mortensen, J.T., Brinck, P., Binderup. L. (1993). Toxicity of vitamin D analogues in rats fed diets with standard or low calcium contents. Pharmacol. Toxicol. 72: 124–127.
- 89) Morton, H. C., Newboold, R. P. (1982). Pathways of high and low voltage electrical stimulation in sheep carcasses. Meat Sci. 7: 285-297.
- 90) Nishimura, T., Liu, A., Hattori, A., Takahashi, K. (1998). Changes in mechanical strength of intramuscular connective tissue during *postmortem* aging of beef. J. Anim. Sci. 76: 528-532.
- 91) O' Halloran, J. M., Ferguson, D. M., Perry, D., Egan, A. F. (1998). Mechanism of tenderness improvement in tenderstreched beef carcases. 44th International Congress of Meat Science and Technology. Barcelona. España. p. 712-713.
- 92) Orlowski, M. (1990). The multicatalytic proteinase complex, a major extralysosomal proteolytic system. Biochemistry. 29 (45): 10289-10297.
- Park, B. Y., Hwang, I. H., Cho, S. H., Yoo, I. M., Kim J. H., Lee J. M., Polkinghorne, R., Thompson, J. M. (2008). Effects of carcass suspension and cooking method on the palatability of three beef muscles as assessed by Korean and Australian consumers. Australian J. Exp. Agric. 48: 1396-1404.
- 94) Price, J.F., Schweigert, B.S. (1994). Ciencia de la carne y de los productos cárnicos. 2ª ed. Zaragoza: Acribia. 581 p.
- 95) Prigge, J.T., Kirkpatrick-Keller, D. D., Killefer, J. (1998). Isolation and characterization of a calpain activator in chicken skeletal muscle. Poult. Sci. 77: 1411-1416.
- 96) Pringle, D. (2000). Avances en la determinación de calidad de came. Congreso de Producción y Comercialización de Carne. Del campo al plato. Montevideo, [s.e.] p. 1-8.

- 97) Reichel, H., Koefler, H. P., Norman, A. W. (1989). The role of the vitamin D₃ endocrine system in health and disease. New Engl. J. Med. 320: 980-991.
- 98) Rentfrow, G.K., Berger, L., Carr, T., Mckeith, F. Brewer, M.S., Berg, E.P. (2001). The effects of feeding elevated levels of vitamins D₃ and E on beef *Longissimus* tenderness. J. Anim. Sci. 79(2): 56.
- 99) Rider Sell, N., Mikel, W.B., Xiong, Y. L., Behrends, J. M. (2004). Vitamin D₃ supplementation of cull cows: Effects on *longissimus* and *semitendinosus* muscle tenderness. J. Anim. Sci. 82: 225-230.
- 100) Riley, R. R., Savell, J. W., Murphey, C. E., Smith, G. C., Stiffler, D. M., Cross, H. R. (1983). Effects of electrical stimulation, subcutaneous fat thickness and masculinity traits on palatability of beef from young bull carcasses. J. Anim. Sci. 56: 584-591.
- 101) Robert N., Briand, M., Taylor, R., Briand. Y. (1999). The effect of proeosome on myofobrilar structures in bovine skeletal muscle. Meat Sci. 51: 149-153.
- 102) Sañudo, C. (1992). La calidad organoléptica de la carne con especial referencia a la especie ovina. Factores que la determinan, métodos de medida y causas de variación. Barcelona. 117 p.
- 103) Sañudo, C. (1998). Lamb meat quality. 44th International Congress of Meat Science and Technology. Barcelona. España. p. 20-47.
- 104) Savell, J. W., F. K. McKeith, G. C. Smith. (1981). Reducing postmortem aging time of beef with electrical stimulation. J. Food Sci. 46: 1777–1781.
- Savell, G. W., Smith, G. C., Carpenter, Z. L. (1978). Beef quality and palatability as affected by electrical stimulation and cooler aging. J. Food Sci. 43: 1666-1668.
- 106) Scanga, J. A., K. E. Belk, J. D. Tatum, G. C. Smith. (2001). Supranutritional oral supplementation with vitamin D3 and calcium and the effects on beef tenderness. J. Anim. Sci. 79: 912–918.
- 107) Seideman, S. C., Cross, H. R., Oltjen, R. R., Schanbacher, B. D. (1982). Utilization of the intac male for red meat production; a review. J. Anim. Sci. 55: 826-840.
- 108) Shanks, B.C., Wulf, D.M., Reuter B.J., Maddock, R.J. (2002). Increasing tenderness of beef round and sirloin muscles through prerigor skeletal separations. J. Anim. Sci. 80:123-128.

- 109) Simmons, N. J., Daly, C. C., Cummings, T. L., Morgan, S. K., Johnson, N. V., Lombard, A. (2008). Reassessing the principles of electrical stimulation. Meat Sci. 80: 110-122.
- 110) Simmons, N., Daly, C., Mudford, C., Richards, I., Jarvis, G., Pleiter, H. (2006). Integrated technologies to enhance meat quality. An Australasian perspective. Meat Sci. 74: 172-179.
- 111) Smith, G.C., Culp, G.R., Carpenter, Z.L. (1978). *Postmortem* aging of beef carcasses. J. Food. Sci. 43: 823-826.
- Solomon, M. B., West, R. L., Hentges, Jr. J. F. (1983). Effects of carcass electrical stimulation on the quality and palatability of beef from young purebred bulls.

 Disponible

 en:

 http://www.animal.ifas.ufl.edu/extension/beef/beef_cattle_report/1983/Meats-chap2.pdf. Fecha de consulta: 12 de marzo 2012.
- 113) Sorheim, O., Hildrum, K.I. (2002). Muscle stretching techniques for improving meat tenderness. Trends Food Sci. Tech. 13(4):127-35.
- 114) Sorheim, O., Idland, J., Halvorsen, E.C., Frùystein, T., Lea, P., Hildrum., K.I. (2001). Influence of beef carcass stretching and chilling rate on tenderness of muscle *Longissimus dorsi*. Meat Sci. 57: 79-85.
- 115) Strydom, P. E., Hope-Jones, M., Frylinck, L., Webb, E.C. (2011). The effects of a beta-agonist treatment, Vitamin D3 supplementation and electrical stimulation on meat quality of feedlot steers. Meat Sci. 89: 462–468.
- Stiffler, D. M., S a v e 1 l, J. W., Smith, G. C., Dutson, T. R., Carpenter, Z. L. (1984). Electrical stimulation purpose, application and results. Disponible en http://meat.tamu.edu/pdf/es.pdf. Fecha de consulta: 12 de marzo 2012.
- 117) Swanek, S. S., Morgan, J. B., Owens, F. N., Gill, D. R., Strasia, C. A., Dolezal, H. G., Ray. F. K. (1999). Vit.D₃ supplementation of beef steers increases *longissimus* tenderness. J. Anim. Sci. 77: 874–881.
- 118) Takahashi, G., Wang, S.M., Lochner, J. V., Marsh, B. B. (1987). Effects of 2-Hz and 60-Hz electrical stimulation on the microstructure of beef. Meat Sci. 19(1): 65-76.
- 119) Tatum, J. D., Belk, K. E., George, M. H., Smith, G. C. (1999). Identification of quality management practices to reduce the incidence of retail beef tenderness problems; development and evaluation of a prototype quality system to produce tender beef. J. Anim. Sci. 77: 2112-2118.

- 120) Taylor, D.G., Cornell, J.G. (1985). The Effects of Electrical Stimulation and Ageing on Beef Tenderness. Meat Sci. 12: 243-251.
- 121) Taylor, R.G, Geesink, G.H., Thompson, V.F., Koohmaraie, M., Goll, D.E. (1995). Is Z-disk degradation responsible for *postmortem* tenderization? J. Anim. Sci.73: 1351-1367.
- Taylor, J. M., Hopkins, D.L. (2011). Patents for Stretching and Shaping Meats. Rec. Pat. Food, Nut. Agric. 3: 91-101.
- 123) Taylor, R.G., Koohmaraie. M. (1998). Effects of *postmortem* storage on the ultrastructure of the endomysium and myofibrils in normal and callipyge longissimus. J. Anim. Sci. 76: 2811-2817.
- Teira, G. A. (2004). Actualidad y perspectivas de un componente principal de la calidad de carnes bovinas: LA TERNEZA. Cienc. Doc. Tecnol. 28: 215-244.
- Tipton, N. C., King, D.A., Paschal, J. C., Hale, D., Savall, J.W. (2007). Effects of oral vitamin D₃ supplementation and supplement withdrawal on the accumulation of magnesium, calcium, and vitamin D₃ in the serum, liver andmuscle tissue and subsequent carcass and meat quality of Bos indicus influenced cattle. Meat Sci. 75: 150-158.
- 126) Toury, R., Stelly, N., Boisonneau, E., Convert, M., Dupuis, Y. (1990). Relationship between vitamin D status and deposition of bound calcium in skeletal muscle of the rat. Biol. Cell. 69:179–189.
- Wang, H., Claus, J. R., Marriott, N. G. (1994). Selected skeletal alterations to improve tenderness of beef round muscles. J. Mus. Foods. 5: 137-147.
- Whipple, G., Koohmaraie, M., Dikeman, M.E., Crouse, J.D. (1990). Predicting beef-longissimus tendemess from various biochemical and histological muscle traits. J. Anim. Sci. 68 (9): 4193-4199.
- 129) White, A., O'Sullivan, A., O'Neill, E.E., Troy, D.J. (2006). Effects of electrical stimulation, chilling temperature and hot-boning on the tenderness of bovine muscles. Meat Sci. 73: 196-203.
- 130) Young, O.A., Graafhuis, A.E., Davey, C.L. (1980). *Postmortem* changes in cytoskeletal proteins of muscle. Meat Sci. 5: 4155-4157.