

PROPIEDADES HIDROTÉRMICAS-ISOMÉTRICAS DEL TEJIDO CONECTIVO PERIMISIO DEL MÚSCULO SEMITENDINOSO BOVINO



RESUMEN

Durante la cocción de la carne, tanto la firmeza del producto cocido como la cantidad de líquido exudado de cocción aumentan. Los cambios en la terneza de la carne a temperaturas superiores a los 65°C podrían estar asociados a la desnaturalización y contracción del colágeno dentro del tejido conectivo intramuscular (IMCT). El componente mayoritario del IMCT es el perimisio y la fuerza de contracción inducida por el calor podría ser considerada la fuerza principal de contracción que contribuye de manera importante a las pérdidas por cocción.

Dado el importante rol del perimisio en la sensibilidad a los cambios durante la cocción, se evaluó en este trabajo la tensión hidrotérmica-isométrica (HIT) en muestras del tejido perimisio aisladas de carne cruda en diferentes soluciones, a fin de evaluar las fuerzas que pueden ser generadas por el componente más importante IMCT en relación a diferentes solutos presentes en el medio de cocción.

María E. Latorre^{1,2*} y Peter P. Purslow²

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

²Dep.de Tecnología y Calidad de los Alimentos - Facultad de Ciencias Veterinarias - UNCPBA.

Tandil, Buenos Aires, Argentina.

latorre.emilia@gmail.com

Sobre muestras de tejido perimisio, aisladas del músculo Semitendinoso bovino a los cinco días post-mortem, se evaluó la HIT. El tejido perimisio en diferentes soluciones (H₂O; 100% PBS (pH: 7,4); Manitol (380 mM; pH: 5,6); 25% Ringer (pH: 7,4) y 25% Sal (pH: 5,6)) fue sometido a un régimen de calentamiento desde temperatura ambiente hasta 85°C y luego mantenido a 85°C durante 30 min.

La temperatura mínima de calentamiento para el desarrollo de la fuerza de contracción se vio afectada por la presencia de solutos en solución, siendo equivalente entre las diferentes soluciones (63,5-64,5°C) y significativamente menor respecto de la temperatura del perimisio en agua (67°C). Los porcentajes de relajación al final del tratamiento respecto a las fuerzas máximas desarrolladas por el perimisio en los distintos sistemas presentaron diferencias significativas. Ello estaría indicando que si bien el perimisio en este músculo es muy estable al calor, las condiciones del medio podrían afectar la contracción y capacidad de relajación respecto a la fuerza máxima alcanzada a los 85°C.

Los resultados apoyan la hipótesis de que las fuerzas generadas en la red del perimisio dentro de la carne durante la cocción podrían contribuir a las pérdidas de líquido por cocción por encima de los 65°C y ser afectadas directamente por cambios en la red del colágeno durante la contracción inducida por el calentamiento y por los solutos presentes en el medio de cocción.

Palabras clave: perimisio, colágeno, firmeza, fuerza de contracción

INTRODUCCIÓN

La carne es un sistema complejo en cualquiera de los niveles estructurales y sus propiedades macroscópicas dependen de las características de reorganización de todos los niveles (Lepetit, 2008). La terneza es el atributo de mayor interés, es la cualidad más importante por el cual se determina la aceptabilidad general de la carne y este atributo es detectado en la carne cocida. Esta propiedad, terneza, está influenciada por las características de los distintos niveles estructurales y por las modificaciones y reorganización que la estructura general de la carne sufre durante el tratamiento térmico. Algunas de las características que contribuyen a determinar la resistencia mecánica de la carne cruda tienen bajo o ningún efecto sobre la fuerza de la carne cocida. Por otra parte, dependiendo del tratamiento térmico, la influencia de cada característica sobre la dureza de la carne puede variar (Lepetit, 2008).

La cocción de la carne implica un aumento progresivo de la temperatura en el sistema, y a medida que el proceso de cocción avanza aumentan tanto la tenacidad del producto como la cantidad de líquido exudado (Davey y Gilbert, 1974; Tornberg 2005). Martens y col. (1982) observaron una correlación entre la desnaturalización térmica de las proteínas, miosina (40-60°C), colágeno (56-62°C) y actina (66-73°C), y los cambios en las características de firmeza, cohesividad y jugosidad, respectivamente. Los autores notaron que la textura óptima se alcanza en la región de temperatura 60-67°C, lo que implica desnaturalización de la miosina y del



colágeno, pero no de la actina (actina nativa). Esto sugiere que el aumento de la dureza de la carne a temperaturas mayores a 60°C puede asociarse especialmente a la desnaturalización del colágeno dentro del tejido conectivo intramuscular (IMCT). Esto es coherente con los resultados de Cartaginez y Purslow (2014) donde se observó que las fuerzas de contracción del IMCT son considerables a temperaturas por encima de 65°C.

El IMCT está compuesto principalmente por fibras de colágeno y elastina, rodeado por una matriz de proteoglicanos (PG). El contenido total de colágeno en los músculos de carne pueden variar de 1 a 15% del peso seco; mientras que la elastina es un componente menor que varía de 0,6 a 3,7% (Bendall, 1967). En el músculo el principal IMCT es el perimysio (90%) (McCormick, 1994) y la cantidad varía entre los músculos de la canal (Purslow, 2005).



Lovac CK

Tripa sintética contraible

* Carnes Procesadas * Embutidos





DIVISIÓN FLEXIBLES
Av. Del Sesquicentenario 4055
Pablo Nogues (1616)
Tel: 011 - 4489 6200 / 4489 6248
gventas@bemis.com
www.dixietoga.com

El Lovac CK es coextrudado, impreso y corrugado en nuestra planta de Argentina siguiendo los rigurosos standard de Calidad de **Bemis** en cumplimiento con la Norma ISO 9001:2008.

- Material liso o impreso con tinta resistente a la cocción.
- Altísima resistencia mecánica que permite embutir a mayor presión.
- Alta barrera al oxígeno.

Lepetit (2008) sugirió que la presión sobre las fibras musculares, que se produce debido a la contracción en el sistema inducido por la cocción, se debe a la elasticidad de las redes de colágeno desnaturalizado por el calor y a los entrecruzamientos covalentes presentes. A partir de los resultados de calorimetría diferencial de barrido (DSC) y microscopia de transmisión electrónica, Purslow (2014) sugirió que tres poblaciones de moléculas de colágeno se combinan dentro de las fibrillas de colágeno: una población formada por entrecruzamientos débiles (lábil), una fracción estable y una población con entrecruzamientos fuertes, de alta estabilidad térmica. Además sugiere que el colágeno lábil -térmicamente soluble aun en períodos cortos de cocción- no tienen ningún efecto sobre la contribución de a la fuerza del IMCT, mientras que la fracciones restantes insolubles al calor podrían solubilizarse progresivamente durante el calentamiento prolongado a temperaturas intermedias o durante los regímenes de cocción a alta temperatura-corto tiempo, pero que sin embargo durante la cocción rápida esta fracción es insoluble.

Por otra parte, Aktas y col. (2001, 2003) evaluaron los efectos del pH, NaCl y CaCl₂ sobre los cambios en la desnaturalización del colágeno mediante DCS y observaron en la temperatura inicial (T₀) y la temperatura máxima de desnaturalización (T_p) se ven fuertemente influenciadas por el pH. También vieron que las diferentes sales y concentraciones afectan la estabilidad térmica del tejido conectivo intramuscular.

Considerables fuerzas se producen en el IMCT perimisiso debido a las características y cambios producidos en el colágeno durante la cocción (Cartaginese y Purslow, 2014). Dichas fuerza pueden ser medidas restringiendo su cambio de longitud mediante estudios de HIT. Los estudios HIT reportados hasta la fecha en tejidos perimisiso son escasos e incipientes, por otra parte no se han encontrados datos en la bibliografía donde se evalúe el efecto de diferentes solutos, iones y H⁺/OH⁻ en solución sobre la tensión generada en el perimisiso o los cambios en la estructura del colágeno durante el calentamiento (cocción).

El presente trabajo tuvo por objetivo evaluar si la presencia de diferentes solutos e iones en el medio de cocción afectan la fuerza de tensión del IMCT-perimisiso. La fuerza de tensión se relaciona con el atributo de mayor interés en calidad de carne -terneza- y los cambios pueden deberse a las características de desnaturalización y reorientación de las fibras de colágeno durante la cocción. De acuerdo con Lewis y Purslow (1989), las fuerzas producidas durante el calentamiento por la red perimisial que rodea los fascículos podría ser la responsable de la exclu-

sión de líquido de las fibras musculares y del aumento de la dureza. El ensayo de HIT permite evaluar las características de fuerza generadas por el perimisiso durante el calentamiento, permitiendo vincularlo con las características de firmeza de la carne cocida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de perimisiso fueron obtenidas a partir de músculo semitendinoso bovino, de novillos Aberdeen Angus disponibles comercialmente (≥ 18 meses de edad y aprox. 400 kg) y extraídos de la canal a las 48 horas post-mortem. El músculo fue cortado en rodajas de 2-3 cm, en forma transversal a la dirección de las fibras musculares, envasado en bolsas Ziploc® inmediatamente después del corte y mantenido a 4°C durante tres días previos a la congelación a -20°C. Todas las porciones de carne se mantuvieron congeladas hasta su uso. Pequeñas tiras de tejido conectivo perimisiso fueron aisladas de las rebanadas de carne cruda, previamente descongelada a temperatura ambiente, utilizando bisturí quirúrgico.

Las tiras de perimisiso fueron colocadas en porta-muestras para la medición de la fuerza de tensión a longitud fija en diferentes soluciones utilizando el aparato de HIT descrito por Purslow y col. (1998). Las soluciones utilizadas para evaluar la HIT del perimisiso semitendinoso fueron: H₂O (destilada); 100% Solución Buffer Fosfato (PBS; pH:7,4); 100% Manitol (380 mM Manitol, 5mM AcK⁺, pH:5,6); 25% solución salina de Ringer (0,72% NaCl, 0,037% KCl, 1,5mM CaCl₂, pH:7,4) y 25% solución salina (0,72% NaCl, 0,037% KCl, 10 mM AcH/AcNa⁺, pH:5,6).

Cada sistema muestra-solución fue sometido a un régimen de calentamiento constante a 3°C/min desde temperatura ambiente hasta 85°C, utilizando una placa con agitación (EchoTherm™). Alcanzados los 85°C, las muestras se mantuvieron a dicha temperatura (85°C) durante otros 30 minutos. La fuerza en función del tiempo y la temperatura fue registrada a lo largo de todo el ensayo.

Para cada sistema se evaluaron diez especímenes (n=10, perimisiso) en solución y se obtuvieron del ensayo HIT la temperatura mínima de calentamiento para el desarrollo de la fuerza de contracción (Temperatura On-set; T_{On-Set}), la fuerza máxima a la mayor temperatura y la fuerza residual al final del período del calentamiento (85°C; 30 min). La caída de la carga máxima se expresó como porcentaje de relajación en relación a la carga máxima del tejido (F_{85°C}; 30min/F_{Max} %).

Los resultados fueron analizados estadísticamente y los sistemas evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA) con nivel de significancia (α) de 0,05. La comparación de muestras se llevó a cabo mediante test de Tukey a posteriori. Para el análisis se utilizó el utilitario Prism5 (Statistical Software para Windows; GraphPad, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El ensayo de tensión hidrotérmica isométrica tiene el propósito de medir las características mecánicas del IMCT perimiso durante el calentamiento (Kopp y Bonnet, 1987). La figura 1 muestra la curva característica de la fuerza de carga (mN) del perimiso a longitud fija, para el sistema perimiso en H₂O, y la curva de temperatura (°C) en el sistema (perimiso-H₂O) en función al tiempo (s), obtenidas del análisis de HIT.

Del ensayo se pudo observar que el desarrollo de fuerza, generación de carga apreciable, para el sistema perimiso en H₂O no se observó antes de que la

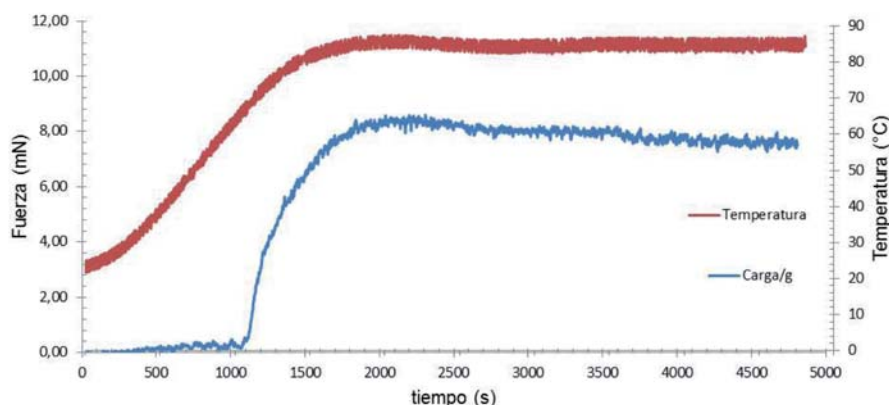
temperatura supere los 67°C. A diferencia de esta situación, la presencia de solutos en solución presentó temperaturas mínimas para el desarrollo de fuerza apreciable (TON-Set) equivalentes entre ellas y significativamente menores en comparación a la observada en el sistema perimiso-H₂O (Tabla 1). Se sabe que la temperatura de transición del colágeno en solución depende de numerosos factores, incluyendo el contenido de hidroxiprolina, la presencia de mucopolisacáridos, pH y la composición iónica del medio acuoso (Aktas, 2003).

Las TON-set para el perimiso en las soluciones ensayadas fueron de 63,5-64,5°C siendo este valor concurrente al obtenido por Cartaginense y Purslow (2014) al evaluar la HIT del perimiso de semitendinoso bovino en solución Buffer (100% PBS).

No obstante que la presencia de solutos, independientemente del pH, presentó menor TON-Set respecto al perimiso en agua, una vez puesto de manifiesto el desarrollo de la fuerza (Figura 2) el aumento de la carga

en relación al calentamiento se mostró lineal y con valores de gradientes semejantes, sin diferencias significativas, para el perimiso en los distintos sistemas (Tabla 1). Los gradientes obtenidos en el presente trabajo fueron ligeramente menores al obtenido por Cartaginense y Purslow (2014) y esto puede deberse a que el tejido perimiso evaluado corresponde a un animal de menor edad de desarrollo con respecto al evaluado en el trabajo previo.

FIGURA 1 - Fuerza (mN) (azul, eje derecho) y temperatura (°C) (rojo; eje izquierdo) versus el tiempo de tratamiento (s) para el sistema perimiso en agua durante el ensayo HIT



Piedmont
AROMAS Y SABORES

EN PIEDMONT SABEMOS
DE AROMAS Y SABORES

Creemos en el trabajo en equipo,
la integración de valores
y la mejora continua.

Luis Viale 1867 (C1416DNA) CABA, Argentina | Tel: (54 11) 4584-8888
VISITE NUESTRA WEB www.piedmont.com.ar | piedmont@piedmont.com.ar

TABLA 1 - Resultados de obtenidos a partir del ensayo de HIT del tejido perimio aislado de semitendinoso bovino en diferentes soluciones*.

| | Sistemas (perimio-solución) | | | | |
|---|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | H ₂ O | 100% PBS (pH:7,4) | 380mM Manitol (pH:5,6) | 25% Ringer (pH:7,4) | 25% Sal (pH:5,6) |
| T _{On-Set} (°C) | 67,4 (0,4) ^a | 63,5 (0,2) ^b | 63,5 (0,5) ^b | 64,3 (0,2) ^b | 64,0 (0,2) ^b |
| Gradiente Fza/T (mN/°C) | 0,53 (0,04) | 0,51 (0,05) | 0,62 (0,04) | 0,51 (0,04) | 0,47 (0,02) |
| % Relajación (F _{85°C; 30min} / F _{Max}) | 9 (1) ^a | 19 (2) ^b | 11 (2) ^a | 14 (1) ^{ab} | 11 (2) ^a |

*Se muestran los valores promedios y entre paréntesis el error estándar (n=10). Letras distintas indican diferencias significativas entre sistemas (p<0,05).

Una vez alcanzada la temperatura máxima (85°C), el sistema se mantuvo a dicha temperatura durante 30 minutos (fin del ensayo); el perimio, indistintamente de la solución, mostró su máximo desarrollo de fuerza al llegar a los 85°C o cerca de esta temperatura. La fuerza máxima de carga desarrollada por el tejido no se vio afectada por los iones, H⁺/OH⁻ o fuerza iónica y los valores fueron entre 10,5-12,5 mN. Sin embargo la estabilidad -capacidad de retención de dicha fuerza en el tiempo (30 min) a alta temperatura (85°C)- se vio perturbada por los solutos (fuerza iónica) presente en la solución buffer PBS a diferencia de los demás sistemas (Figura 2). Tal como se puede en los valores en la tabla 1, el sistema perimio-solución buffer PBS presentó el máximo porcentaje de relajación, menor estabilidad térmica de conectivo.

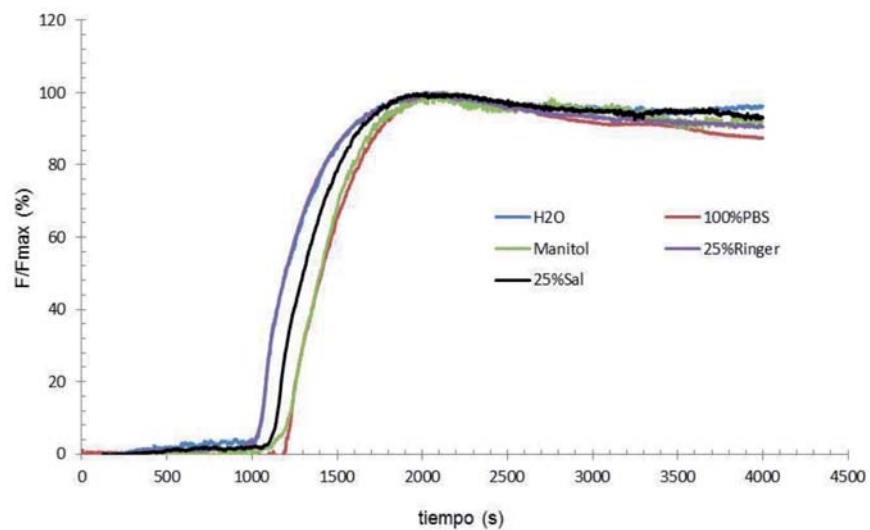
La parte de inicial de la curva de fuerza (forma sigmoidea) refleja el “enderezamiento” (straightening) de las fibras de colágeno inicialmente onduladas y que

luego del desarrollo de la fuerza de contracción completa, fibras enderezadas, tratan de aminorar contra la restricción isométrica. Debido a que las tiras de tejido ensayadas se mantienen a una longitud constante (isométrica), las fibras de colágeno no pueden reorientarse, a diferencia de las probetas en las pruebas de extensión de Lewis y Purslow (1989). Los resultados obtenidos, junto a los de Cartaginense y

Purslow (2014), apoyan la hipótesis de que las fuerzas del encogimiento del tejido conectivo intramuscular a temperaturas de cocción por encima de 65°C son considerables y que podrían contribuir a la pérdida de líquido y al aumento de la dureza de la carne a altas temperaturas.

Con respecto las diferencias observadas en la pérdida de fuerza durante la cocción para el perimio en buffer PBS respecto a los demás sistemas, si bien se podría pensar en efecto de la solubilización del colágeno, fracción estable, a los 85°C durante el período de 30 min a dicha temperatura, los resultados del trabajo de Cartagenes y Purslow (2014) mostraron que sólo un 3,6% del total del colágeno fue solubilizado durante el tratamiento térmico a 85°C-30min. Los autores indicaron que el pequeño grado de solubilización es proporcional a una pequeña relajación en la fuerza de contracción. Asimismo sugieren que el perimio de este músculo es muy resistente a la cocción.

FIGURA 2 - Fuerza Relativa porcentual (FTi;ti /FMax %) versus tiempo de tratamiento (s) para el perimio en distintas soluciones (H2O-azul; 100% PBS-rojo; 380mM Manitol-verde; 25% Ringer-violeta; 25%Sal-negro)



Por otra parte, Aktas (2003) ha observado que diferentes concentraciones de sal y diferentes sales afectan la estabilidad térmica del tejido conectivo intramuscular y sugiere que la estabilidad térmica debe representar cambios en la naturaleza del colágeno o de su entorno como el hinchamiento o swelling y además que los enlaces hidrófobos y puentes de hidrógeno son importantes en la estabilización de las fibras de colágeno.

CONCLUSIONES

Este estudio ha demostrado la viabilidad de poder examinar a pequeña escala las propiedades mecánicas intrínsecas de perimio aislado de la carne. Esta técnica podría ser de interés para la determinación de cambios en el IMCT-perimio, proveniente de diferentes animales (edad, raza, alimentación, etc.), dado que los cambios en la fuerza del componente perimisial durante la cocción contribuyen fuertemente sobre la textura (terneza) de la carne cocida. Los resultados del trabajo apoyan la hipótesis de que las fuerzas generadas en la red del perimio dentro de la carne durante la cocción podrían contribuir a las pérdidas de líquido por encima de los 65°C y ser afectadas directamente por cambios en la red del colágeno durante la contracción inducida por el calentamiento y por los solutos (iones, $[H^+]/[OH^-]$ y fuerza iónica) presentes en el medio de cocción.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero de CONICET y de la Universidad Nacional de Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA).

REFERENCIAS

- Akta, S. N., M. Kaya (2001). Influence of weak organic acids and salts on the denaturation characteristics of intramuscular connective tissue. A differential scanning calorimetry study. *Meat Science* 58 (2001) 413–419.
- Akta, S. N. (2003). The effects of pH, NaCl and CaCl₂ on thermal denaturation characteristics of intramuscular connective tissue. *Thermochimica Acta* 407 (2003) 105–112.
- Bendall, J. R. (1967). The elastin content of various muscles of beef animals. *Journal of Science Food Agriculture*, 18, 553–558.
- Cartagines Alicia M and Purslow Peter P. (2014). Hydrothermal isometric tension properties of perimisial connective tissue in bovine semitendinosus muscle. Conference: 60th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), At Punta del Este, Uruguay.
- Champion, A.E., Purslow, P.P. and Duance, V.C. (1988). Dimensional changes of isolated endomysia on heating. *Meat Science* 24, 261–273.
- Davey, C.L. & Gilbert, (1974). Temperature-dependent Cooking Toughness in Beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25, 931–938.
- Kopp, J. & Bonnet, M. (1987). Stress-strain and isometric tension measurements in collagen. In: *Advance in Meat Research*, Vol. 4: Collagen as a food. Ed. A. M. Pearson, T. R. Dutson & A. J. Bailey. Van Nostrand Reinhold, NY, pp. 163
- Lepetit, J. (2008). Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science*, 80, 960–967.
- Lewis, G.J. & Purslow, P.P. (1989). The strength and stiffness of perimisial connective tissue isolated from cooked beef muscle. *Meat Science*, 26, 255–269.
- Martens, H., Stabursvik, E., & Martens, M. (1982). Texture and colour changes in meat during cooking related to thermal denaturation of muscle proteins. *Journal Texture Studies*, 13, 291–309.
- McCormick, R.J. (1994). Extracellular modifications to muscle collagen: Implications for meat quality. *Poultry Science*. (78): 785–791.
- Purslow, P.P. (2014). New developments on the role of intramuscular connective tissue in meat toughness. *Annual Review in Food Science and Technology*, 5, 133–153.
- Purslow, P.P. (2005) Intramuscular connective tissue and its role in meat quality – a review. *Meat Science* 70 (3), 435–447.
- Purslow, P.P., Wess, T.J. & Hukins, D.W.L. (1998). Collagen orientation and molecular spacing during mechanical transients in soft connective tissues. *The Journal of Experimental Biology*, 201 (1), 135–142.
- Tornberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins - Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70(3), 493–508.



De Francesco®
EQUIPAMIENTOS FRIGORÍFICOS

REPRESENTANTE EN ARGENTINA



• DESCORTEZADORA



• ATADORA DE CHORIZOS AUTOMÁTICA



• HAMBURGUESERAS



• EMPANADORAS



• ATADORA DE CHORIZOS MANUAL

www.df-maquinaria.com.ar / 0223 482-1052 . 12 de Octubre 6628 . Mar del Plata / info@defrancesco.com