

## Evaluación de la terneza muscular en bovinos empleando los métodos tradicional y picrosirius red

Blanco, M. R.<sup>1-4</sup>, Abbiati, N. N.<sup>3-4</sup>, Rovegno, M. S.<sup>3</sup>, Marotta, P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Anatomía, FCA, UNLZ, <sup>2</sup>Cátedra de Industrias de la Cadena de la Carne, FCA, UNLZ, <sup>3</sup>Cátedra de Biometría, FCA, UNLZ, <sup>4</sup>IIPAS

### Resumen

La terneza es una característica de importancia económica y el método más utilizado para medirla es el de Warner-Bratzler. Las fibras que contienen colágeno de tipo I (colágenas) y aquellas ricas en colágeno de tipo III (reticulares) son las mayores componentes del tejido conectivo intramuscular. Un elevado contenido de las mismas afecta negativamente la terneza. Un método adecuado para efectuar las determinaciones de los porcentajes de fibras es el histológico de Picosirius red. El objetivo de este trabajo fue comparar la terneza de los músculos Largo dorsal y Glúteo medio para dos categorías bovinas de una cruce, mediante las técnicas de Warner-Bratzler y Picosirius red. Se dispuso de una muestra de los cortes carniceros Largo dorsal y Glúteo medio de machos castrados de la cruce Angus x Mestizo, categorías novillitos y novillos, sobre la cual se evaluó terneza mediante las técnicas Warner-Bratzler y de Picosirius red modificado (porcentaje de fibras colágenas y reticulares). El mayor porcentaje de fibras colágenas promedio se dan en el Glúteo medio. Por otro lado, se detectó un comportamiento diferencial según categoría y músculo de las tres formas de medir terneza. Con relación a Largo dorsal, se observó una alta correlación entre Warner-Bratzler y el porcentaje de Fibras Colágenas. En cambio para el Glúteo medio se detectó una alta correlación negativa entre los porcentajes de Fibras Reticulares y Colágenas. Para la determinación de terneza empleando Warner-Bratzler la categoría novillos presenta una mayor dureza media que novillitos y a su vez Glúteo presenta una dureza media mayor que Largo dorsal. Con relación a las fibras, novillitos presenta un mayor porcentaje promedio de Fibras (Reticulares o Colágenas) en Glúteo que en Largo dorsal, y el mayor porcentaje promedio de Fibras es Colágenas. En la categoría novillos se detecta interacción entre el Tipo de fibra y el Músculo (valor  $P = 0.0005$ ), no difiriendo las medias de los cortes en las fibras reticulares pero siendo mayor en G los porcentajes de fibras colágenas.

Palabras clave: fibras colágenas, fibras reticulares, WB, musculo, terneza.

### Introducción

La identificación y trazabilidad de la carne es un objetivo que se hace indispensable para los consumidores, productores y para su comercialización. Esta demanda global necesita de importantes esfuerzos en el dominio de métodos analíticos, además de la identificación, la cadena de la carne debe imperativamente adoptar técnicas de medición de composición de las canales y de los cortes para conocer la materia prima y pagar a los productores un precio acorde a la calidad de sus animales. La terneza es el factor de calidad intrínseca de la carne más importante y más variable. Si bien existen numerosas

tecnologías post-mortem tendientes a mejorarla, la totalidad de la industria se beneficiaría con la producción consistente de carne certificada tierna (Beltrán y Roncalés, 2005).

Otra prioridad de la cadena es la evaluación “no destructiva” de las propiedades y textura de las carnes. Debe considerarse que la definición del precio de la carne resultaría directamente de la predicción de esta característica cualitativa. También los capítulos a poner en marcha derivan de una ciencia de los alimentos que definirá las mediciones pertinentes a realizar, por ejemplo: estructura de la trama del tejido conjuntivo (Blanco, 2004). La mayoría de los consumidores consideran a la terneza como el factor más importante que determina la calidad de la carne. Obviamente, es muy difícil establecer un valor que separe lo que es tierno de lo que no es, pero lo importante es tener presente que la dureza de la carne depende de numerosos factores, que es muy variable y, que si se controlan esos factores, es posible lograr una carne con una terneza aceptable. (Beltrán y Roncalés, 2005).

Al igual que los otros parámetros que definen la calidad de la canal y de la carne, la textura y terneza dependen de numerosos factores relacionados con la producción y el manejo previo y posterior al sacrificio los factores antemortem que afectan son a) Intrínsecos: raza, individuo, sexo, peso de faena, edad, músculo, tejido conectivo, etc. b) Extrínsecos: sistema de producción, dieta, manejo, transporte, ayuno, sacrificio, etc. En cuanto a los factores post mortem los que tienen influencia son frío, tiempo de maduración, tipo de músculo, tiempo de conservación, método de cocción, otros.

La terneza de la carne es una característica de gran importancia económica, debido a que incide en la reiteración de compra por parte de los consumidores. Depende de muchos factores que la hace altamente variable y a diferencia de otros fenotipos, la terneza no es verificable hasta después de la faena y por lo tanto, el acceso a una metodología de selección de reproductores por medio de marcadores, provee a los criadores de una herramienta que proporciona criterios de selección objetivos, sin tener que esperar a la faena o a obtener su descendencia, para saber si se transmitió el carácter. El método objetivo más utilizado internacionalmente, es el de determinación del esfuerzo de corte (en kg) con una cizalla de Warner-Bratzler (WB): a mayor valor de fuerza de corte, menor terneza. La técnica WB es muy cuestionada y los resultados obtenidos muy contradictorios, al igual que el uso de los paneles de catadores. Básicamente porque 1) implementarlos rutinariamente demandaría costos muy elevados 2) presentan mucha variabilidad entre sus repeticiones, 3) todos se deben realizar *post mortem*, 4) no permiten determinar la terneza de un animal a partir de un músculo determinado, 5) hay diferencias en los procesamientos de la carne entre países, por lo tanto utilizar un umbral de terneza general, que ha sido determinado en condiciones particulares de un país, puede ser orientativo, pero no totalmente correcto. Existe una muy baja correlación entre la apariencia visual de la carne y su calidad al momento de ser consumida. La satisfacción del consumidor con el producto (y su impulso a comprarlo nuevamente) queda definida al momento de consumir la carne, mientras que la elección durante la compra queda definida por su apariencia visual (color, contenido de grasa). En consecuencia, a veces, el consumidor selecciona carne que no satisface sus exigencias al momento del consumo (Russell *et al.*, 2005).

El colágeno es el principal responsable de la “terneza de base” de la carne, que después va a estar afectada por la maduración; éste varía mucho de un músculo a otro. Las fibras que contienen colágeno de tipo I (fibras colágenas) y aquellas ricas en colágeno de tipo III (fibras reticulares) son el mayor componente del tejido conectivo intramuscular (TCI). Un

elevado contenido de las mismas afecta la terneza así como también el valor biológico de la proteína cárnica (Bosselmann *et al.*, 1995).

La cantidad de colágeno total, medido por métodos bioquímicos, varía poco con la edad de los animales pero el grado de reticulación y la cantidad de fibras que lo contienen aumentan con la edad (disminuye la solubilidad). Esto explica que la carne de los animales adultos sea más dura que la de los jóvenes. La estabilidad mecánica y química de las fibras que contienen colágeno se incrementa con la edad cronológica (Sinex, 1968, Robins *et al.*, 1973). La estabilidad mecánica de TCI depende no solamente de los eslabones entrecruzados de colágeno sino también del tamaño y disposición u ordenamiento de las fibras de colágeno (Rowe, 1981).

El conocimiento de los cambios en la textura que ocurre en la carne de los animales, con el crecimiento y maduración están más directamente correlacionados con la maduración progresiva del colágeno muscular. Es evidente que la maduración del colágeno y concentración de enlaces (crosslink's) en los músculos se incrementa con la edad en todas las especies, pero hay excepciones, por ejemplo en el músculo semitendinoso que posee niveles altos niveles de colágeno (Dransfield, 1977) pero moderados o bajos niveles de crosslink's (Ligth *et al.*, 1985). Generalmente el colágeno "total" se incrementa con la edad hasta los 11 o 12 meses y posteriormente desciende a partir de los 18 a 19 meses, si bien la solubilidad del colágeno constantemente desciende con la edad, en el músculo Longuissimusthoracis (LT) de toros (Cross *et al.*, 1984, Maltin *et al.*, 1998).

Estudios histológicos que evalúen al TCI y lo relacionen con la terneza de la carne son escasos. El conocimiento *in vivo* o *post mortem* de la proporción de fibras colágenas y reticulares del TCI puede ser una medida para inferir la terneza de la carne y/o reducir su variabilidad. Un método adecuado para efectuar estas determinaciones es el histológico de Picrosirius red modificado (Montes, 1996). El objetivo de este trabajo fue comparar la terneza de los músculos Largo dorsal y Glúteo medio para dos categorías bovinas de una craza, mediante las técnicas de WB y Picrosirius red.

## **Materiales y métodos**

Se dispuso de una muestra de 16 machos castrados de la craza Angus x Mestizo cara blanca, criados y alimentados sobre una pastura natural. Se evaluaron dos categorías bovinas: 8 novillitos (NT) de 2 años y 8 novillos (N) de 3 años de edad. En un frigorífico se obtuvieron los cortes carniceros Largo dorsal (L) y Glúteo medio (G) de los animales trazados y posteriormente fueron evaluados mediante la técnica WB y de Picrosirius red modificado (% de fibras colágenas y de fibras reticulares)(Montes, 1996). Para el análisis estadístico se emplearon en la parte descriptiva Análisis de Componentes Principales (ACP) (Cuadras, 2014), en la parte inferencial Análisis de Correlaciones; Análisis discriminante (AD) con selección de variables mediante el método stepwise con un nivel de significación tanto de entrada como de permanencia de las variables del 15%, con una tasa de error por mala clasificación de validación cruzada (Peña, 2002). Además, para modelar la terneza empleando las distintas técnicas de medición, contemplando la posible correlación entre los cortes y los tipos de medición se emplearon modelos lineales mixtos (MLM) (Mc Culloch *et al.*, 2008). Para determinar la estructura de correlación se usó el criterio de Akaike. Se empleó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer. Se trabajó con un nivel de significación del 5%. Se utilizaron los software InfoStat y SAS, (Di Rienzo *et al.*, 2016) y (SAS Institute Inc., 2009).

## Resultados y conclusiones

En el cuadro 1 se presentan estadísticos descriptivos según categoría y corte bovino.

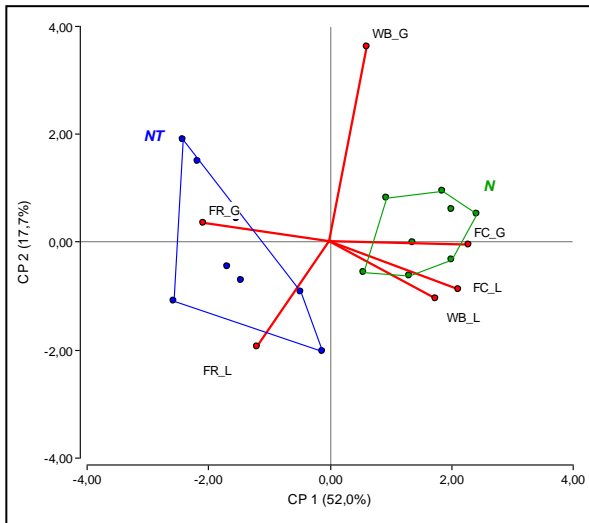
**Cuadro 1:** Medias y errores estándares para las variables según categoría y corte bovino

Categoría	Corte	Técnica WB		Técnica Picrosirius red			
				% Fibras Colágenas		% Fibras Reticulares	
		Media	E.E.	Media	E.E.	Media	E.E.
NT	G	38,45	4,81	12,46	0,11	8,31	0,29
	L	27,05	2,30	10,50	0,31	6,78	0,17
N	G	47,04	4,50	14,19	0,10	6,95	0,17
	L	36,12	2,96	11,79	0,19	6,28	0,10

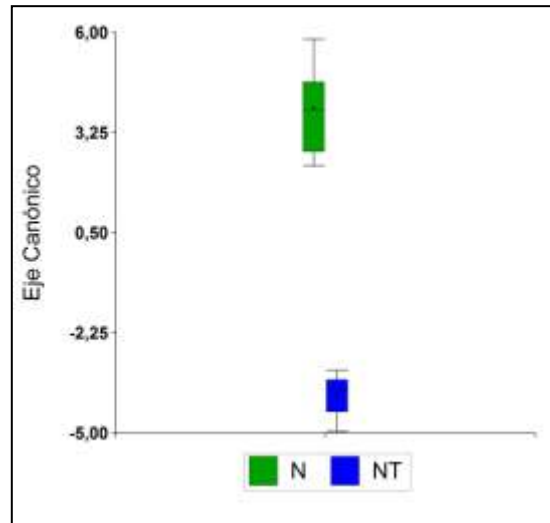
NT: novillito; N: novillo; G: Glúteo medio; L: largo dorsal

Para G se detectó correlación entre los % de Fibras Reticulares y Colágenas ( $r = -0.7794$ ; valor  $p = 0.0004$ ). En cambio, para L se detectó correlación entre la Terneza empleando WB y los % de Fibras Colágenas ( $r = 0.5355$ ; valor  $p = 0.0326$ ). Además, se detectaron correlaciones entre los % de Fibras Reticulares de G (FR\_G) y los % de Fibras Colágenas de L (FC\_L) ( $r = -0.7238$ ; valor  $p = 0.0015$ ); entre FC\_L y % de Fibras Colágenas de G (FC\_G) ( $r = 0.7384$ ; valor  $p = 0.0011$ ) y entre FC\_Gy WB de L ( $r = 0.5859$ ; valor  $p = 0.0171$ ). En ACP con dos componentes principales se capturó el 70% de la variabilidad de los datos. La primera componente (52%) se relaciona positivamente con FC\_G, FC\_L y WB\_L que se contraponen con FR\_G. En cambio la segunda componente contrapone WB\_G y FR\_L. En el biplot se observa que permite una separación de las categorías bovinas (gráfico 1).

Con relación al análisis discriminante lineal, donde la variable de agrupamiento fue la categoría, el método stepwise seleccionó las variables FC\_G, FR\_L y WB\_G. La tasa de error por mala clasificación fue del 0%. El gráfico de la caja del eje canónico muestra la separación entre ambas categorías (gráfico 2).

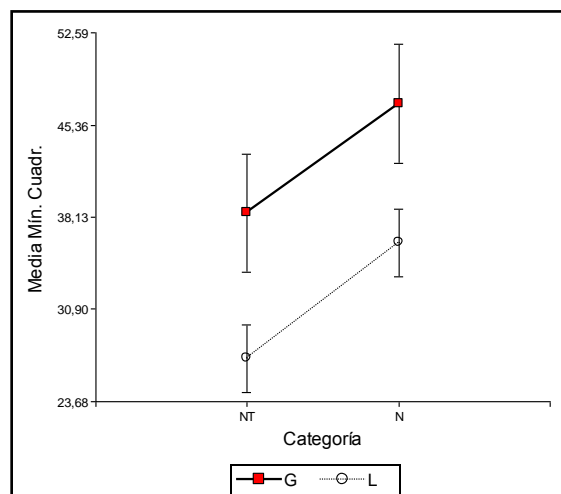


**Gráfico 1.** Biplot de las variables y los bovinos discriminados según categorías.



**Gráfico 2.** Box-Plot del eje canónico según categorías.

En el análisis empleando modelos mixtos se utilizó una matriz R desestructurada de dos bandas, no se detectó interacción triple (valor  $p = 0.0945$ ) entre los métodos de medición de terneza, las categorías bovinas y los músculos, ni entre categorías y músculos (valor  $p = 0.9132$ ), si entre las restantes interacciones dobles. Se decidió efectuar dos análisis separados para WB y las fibras (reticulares y colágenas). Para la determinación de terneza empleando WB la categoría N presenta una mayor dureza media que NT (41.58; 32.75). A su vez G presenta una dureza media mayor que L (42.74; 37.16), ver gráfico 3. Con relación al porcentaje de fibras se detectó interacción triple entre las categorías bovinas, los músculo y el tipo de fibra (valor  $p = 0.0202$ ). En consecuencia se efectúa un análisis por separado para cada categoría. La categoría NT presenta un mayor porcentaje promedio de Fibras (Reticulares o Colágenas) en G que en L (10.39 vs. 8.64). A su vez el mayor porcentaje promedio de Fibras es Colágenas (11.48 vs. 7.54). En la categoría N se detecta interacción entre el Tipo de fibra y el Músculo (valor  $P = 0.0005$ ). En el Cuadro 2 figura el resultado de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer.



**Gráfico 3.** Técnica de WB. Medias mínimo cuadráticas y E.E. para categorías y cortes.

**Cuadro 2.** Prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer para Novillos.

Corte	Fibras	Media
L	Reticulares	6.28 a
G	Reticulares	6.95 a
L	Colágenas	11.79 b
G	Colágenas	14.19 c

Medias con la misma letra no difieren significativamente

El análisis multivariado de los datos permitió detectar un comportamiento diferencial según categoría y músculo de las tres formas de medir terneza. Tanto en ACP como en AD, las variables medidas (o un subconjunto de ellas) mostraron diferencias entre NT y N. Con relación a L, se observó una correlación entre WB y el % de Fibras Colágenas. En cambio para G se detectó una correlación negativa entre los % de Fibras Reticulares y Colágenas. La posición anatómica de los músculos determina el contenido de colágeno, ya que los músculos más activos y/o involucrados en los movimientos contienen, naturalmente, la mayor cantidad de tejido conectivo. Los músculos de las patas de los animales realizan más movimientos y los músculos situados en el lomo son usados primordialmente para sostener la estructura del esqueleto y postura del animal. Por lo tanto, es lógico que el mayor porcentaje de fibras colágenas promedio se den en G que en L. Hay marcadas diferencias en tipo y cantidad de fibras en el TCI en diferentes músculos de un animal y entre animales, que influyen en la calidad y dependen de factores como ubicación corporal, edad y raza (Blanco, M.R. 2004, Blanco y Alonso, 2007). Se concluye que para la determinación de terneza empleando el método de Warner-Bratzlerse pueden diferenciar tanto las categorías bovinas como los músculos largo dorsal y glúteo medio. Para la categoría novillitos, se pueden diferenciar ambos músculos a través de la medición del porcentaje de Fibras Reticulares o Colágenas. En cambio en novillos, el porcentaje de fibras colágenas permite diferenciar los músculos pero no el porcentaje de fibras reticulares.

## Bibliografía

Beltrán, J.A. y Roncalés, P. (2005). Determinación de la textura. En: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Coordinadores: Cañeque, V. y Sañudo, C. Monografías INIA: *Serie Ganadera* N° 3. Madrid, España. 237-242.

Blanco, M.R. (2004). Valoración de la terneza de la carne bovina: influencia del colágeno de tipo I y III. *Cuadernos del CEAgro* N° 6: 127-132.

Blanco, M.R. y Alonso C.R. (2007). Collagen. Type I and III in bovine muscles. *Archivos de Zootecnia*, 56(214): 253-257.

Bosselmann, A., Möller, C., Steinhart, H., Kirchgessner M. y Schwarz, F.J. (1995). Pyridinoline cross-links in bovine muscle collagen. *Journal of Food Science*, 60(5): 953-958.

Cross, H.R., Schenbacher, B.D., Crouse, J.D. (1984). Sex, age and breed related changes in bovine testosterone and intramuscular collagen. *Meat Science*, 10: 187-195.

Cuadras, C.M. (2014). *Nuevos Métodos de Análisis Multivariante*. Barcelona: CMC Editions, España.

Versión obtenida el 18/03/2015 desde:

<http://www.ub.edu/stat/personal/cuadras/metodos.pdf>

Dransfield, E. (1977). Intramuscular composition and texture of beef muscles. *J. Sci. Food Agr.*, 28: 833-842.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat. (2016). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Desde: <http://www.infostat.com.ar>

Ligth, N.D., Champion, A., Voyle, C., Bailey, A.J. (1985). The role of epimysial, perimysial and endomysial collagen in determining texture in six bovine muscles. *Meat Science*, 13:137-149.

Maltin, C.A, Sinclair, K.D, Warriss, P.D, Grant, C.M., Porter, A.D., Delay, M.I., Warkup, C.C. (1998). The effects of age at slaughter, genotype and finishing system on the biochemical properties, muscle fibre type characteristics and eating quality of bull beef from suckled calves. *Animal Science*, 66:341-348.

Mc Culloch, C.E. y Searle, S.R. y Neuhaus, J.M. (2008). *Generalized, Linear, and Mixed Models*, 2nd Edition. New York: John Wiley & Sons, USA.

Montes, G.S. (1996) .Structural biology of the fibres on the collagenous and elastic system. *Cell Biology Int.*, 20(1): 15-27.

Peña, D. (2002). *Análisis de datos multivariantes*. Madrid: McGraw-Hill/Interamericana de España, S.A.U.

Robins, S.P., Shimokomaki S., Bailey J. (1973). The chemistry of the collagen cross-links. Age related changes in the reducible components of intact bovine collagen fibers. *Biochem. J.*, 131: 771-780.

Rowe, R.D. (1981). Morphology of perimysial and endomysial connective tissue in skeletal muscle. *Tissue Cell*, 13: 681-690.

Russell, B.C., Mcalister, G., Ross, I.S., Pethick, D. W. (2005). Lamb and sheep meat eating quality industry and scientific issues and the need for integrated research. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45: 465-467.

SAS Institute Inc. (2016). SAS ® 9.4. Cary, NC: SAS Institute Inc., USA.

Sinex, F.M. (1968). *Treatise on collagen*. G.N. Ramachandran, Ed. Vol. 2 B. Academic Press, New York.