

# ***BIOQUÍMICA DEL MÚSCULO***

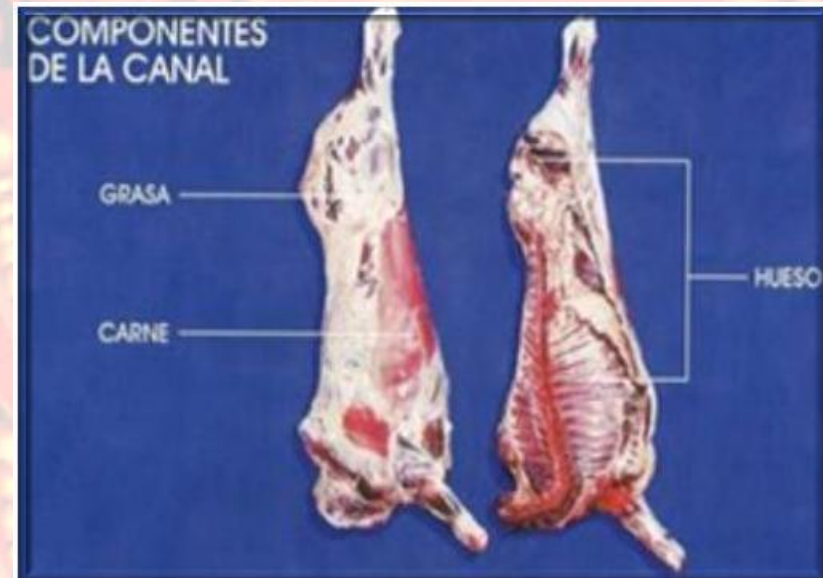
*Cambios post mortem.  
Procesos bioquímicos que ocurren durante la  
maduración de la carne.  
Influencia sobre la calidad final de producto.*

*Dra. Adriana Pazos*  
**Instituto Tecnología de Alimentos (ITA)**  
**INTA**

*Curso Anual IPCVA –11 de Noviembre de 2009*  
*Envases en la Industria de la Carne Vacuna: Fundamentos y Aplicaciones*

# Tejidos de la canal

- **muscular** - mayoritario
- **adiposo**
- **óseo** (13 – 18% p/p)

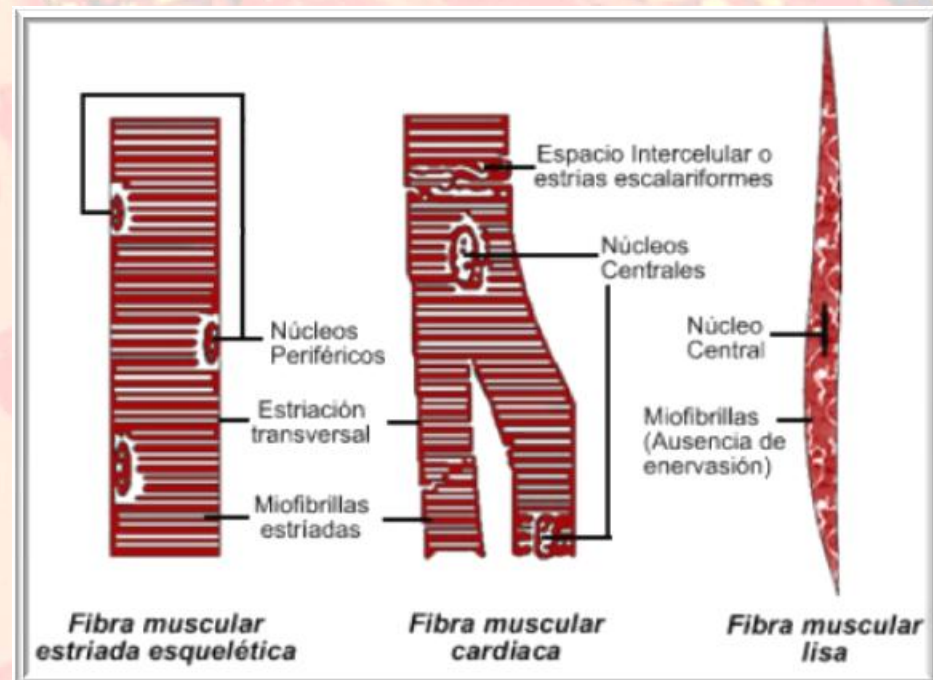


# Músculo

capacidad para contraerse, en respuesta a un estímulo nervioso.

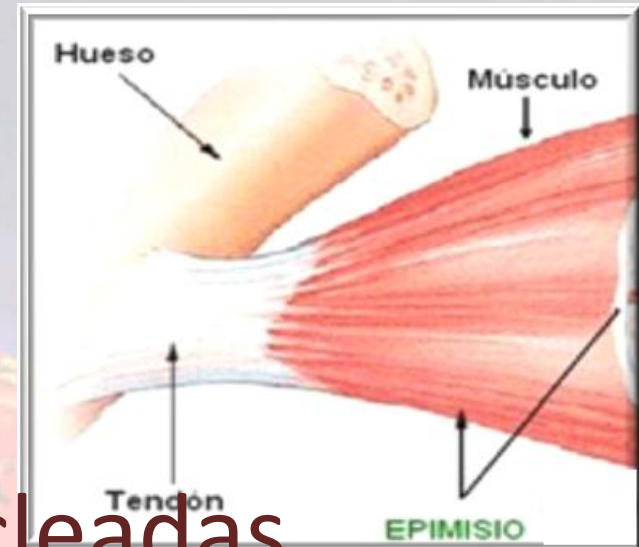
tejido muscular:

- *liso*
- *cardíaco*
- *esquelético*



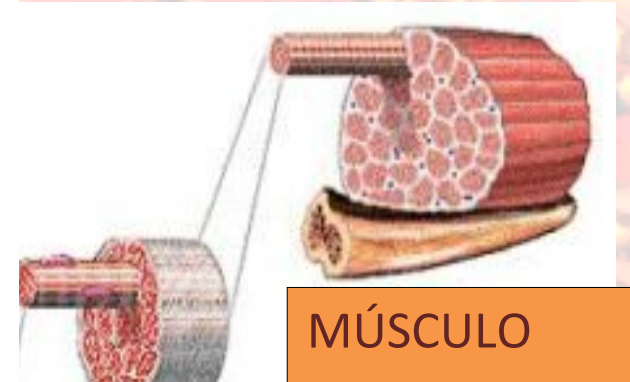
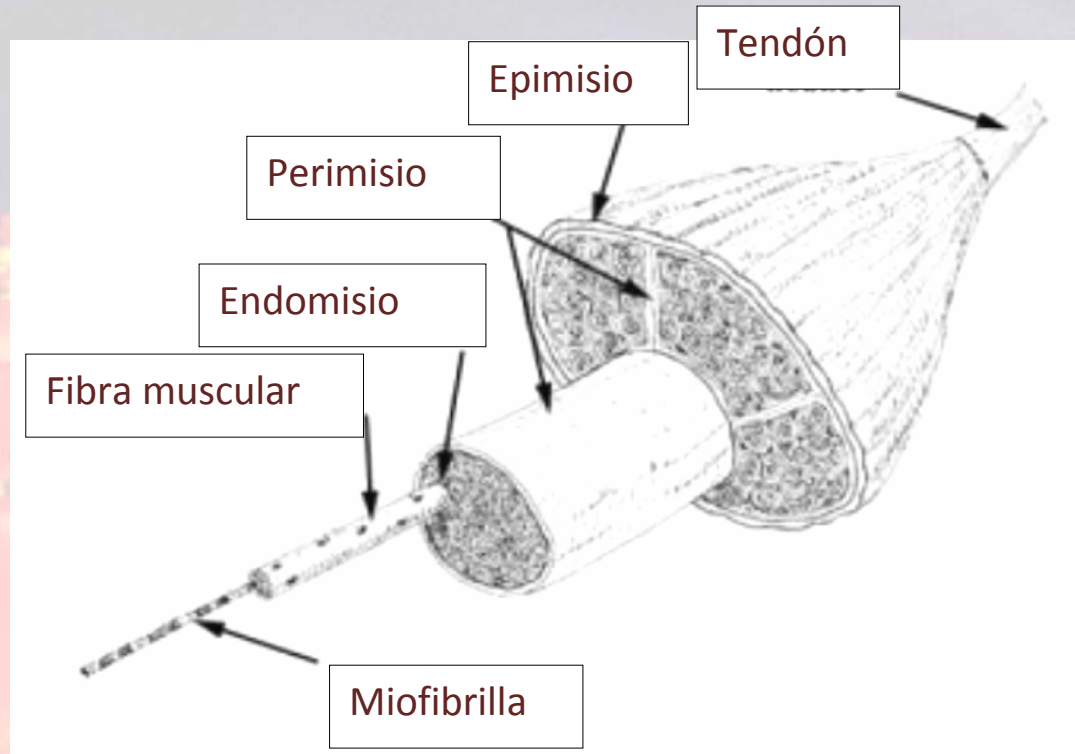


# Músculo esquelético



- Fibras largas multinucleadas
- Inervado a partir del SNC
- Unido a huesos por tendones
- Contracciones - huesos y cartílagos
- Mayoría de la masa corporal de los vertebrados

# Estructura del músculo esquelético



MÚSCULO



HAZ de FIBRAS



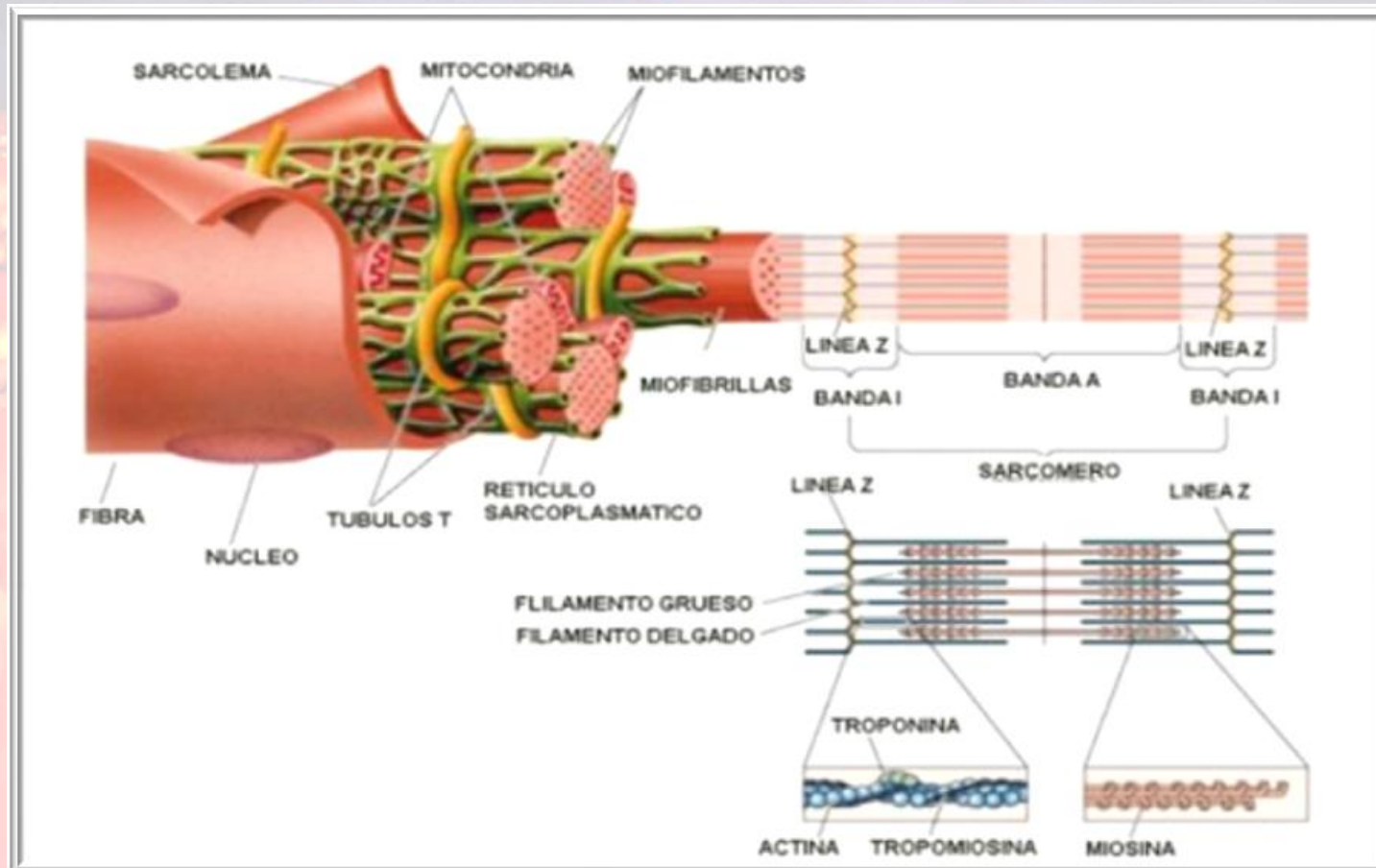
FIBRA MUSCULAR (célula)

MIOFIBRILLA

MIOFILAMENTO

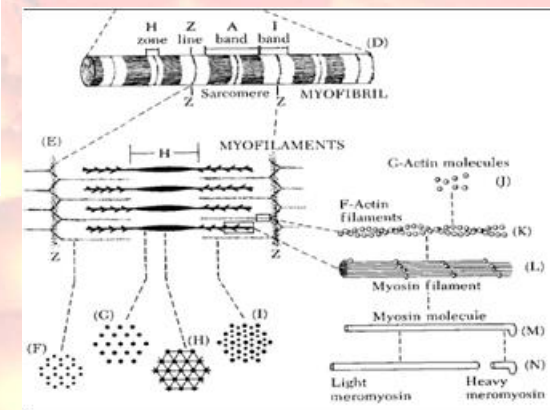
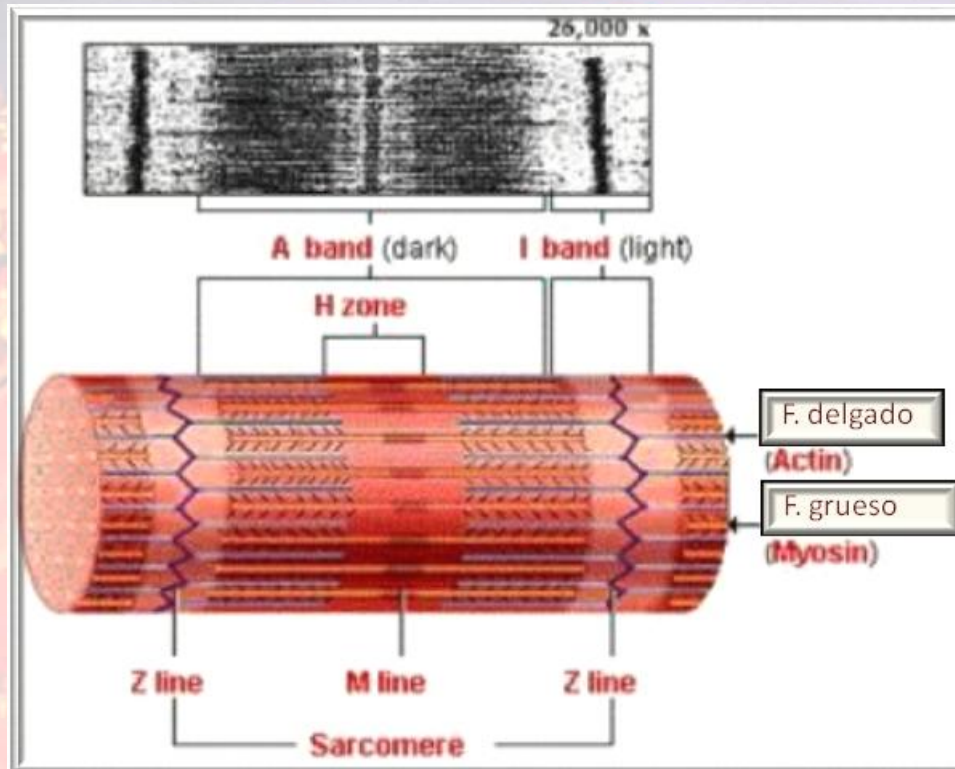


# Fibra muscular





# Ultra-estructura de la miofibrilla



# Composición química del músculo

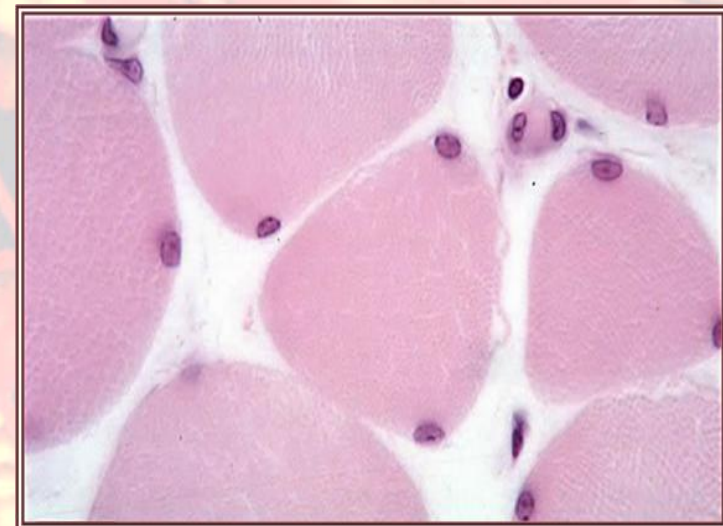
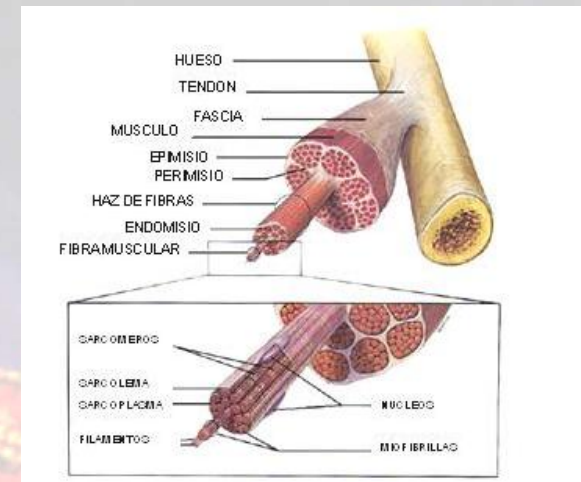
- AGUA 68-75%
- **PROTEÍNAS 18-25%**
- LÍPIDOS 4-12%
- H de C 1%
- MINERALES 1%





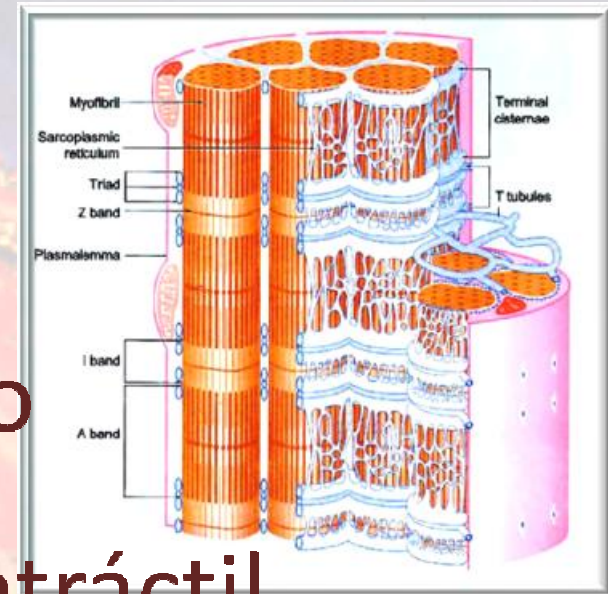
# Proteínas del músculo

- Sarcoplásmicas
- Miofibrilares - *65/75% proteínas musculares*
- Tejido Conectivo



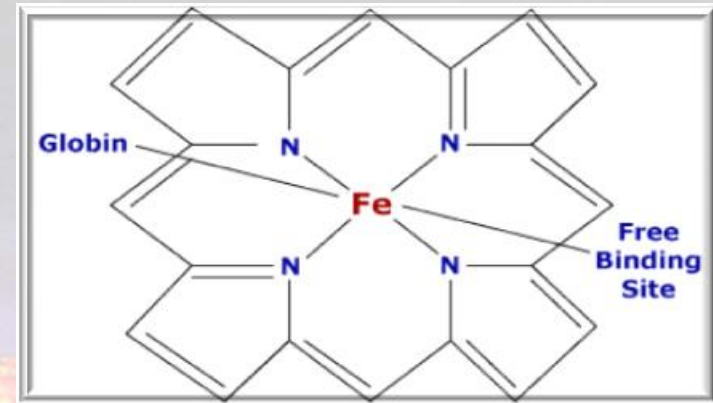
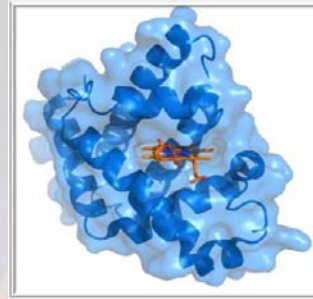
# Proteínas Sarcoplásmicas

- *Enzimas* del metabolismo
- Proteínas no aparato contráctil
- *Mioglobina*, hemoglobina, proteasas





# Mioglobina



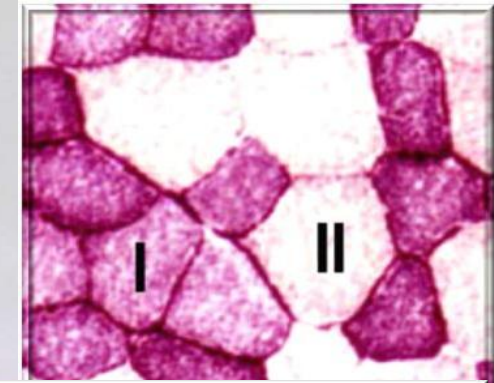
- Pigmento carne fresca (*depósito oxígeno*)
- El contenido varía con la *edad*, la *especie* y el *tipo de fibra*

Age class	Myoglobin content
Veal	2 mg/g
Calf	4 mg/g
Young beef	8 mg/g
Old beef	18 mg/g

Species	Color	Myoglobin content
Pork	Pink	2 mg/g
Lamb	Light red	6 mg/g
Beef	Cherry red	8 mg/g



# Tipos de fibra



## **Tipo I – ST**

**contracción lenta**

**Rojas**

*Pocas miofibrillas*

*Abundante mioglobina*

*Extensor carpi radialis*

*12mgMb/g*

## **Tipo II – FT**

**contracción rápida**

**Blancas**

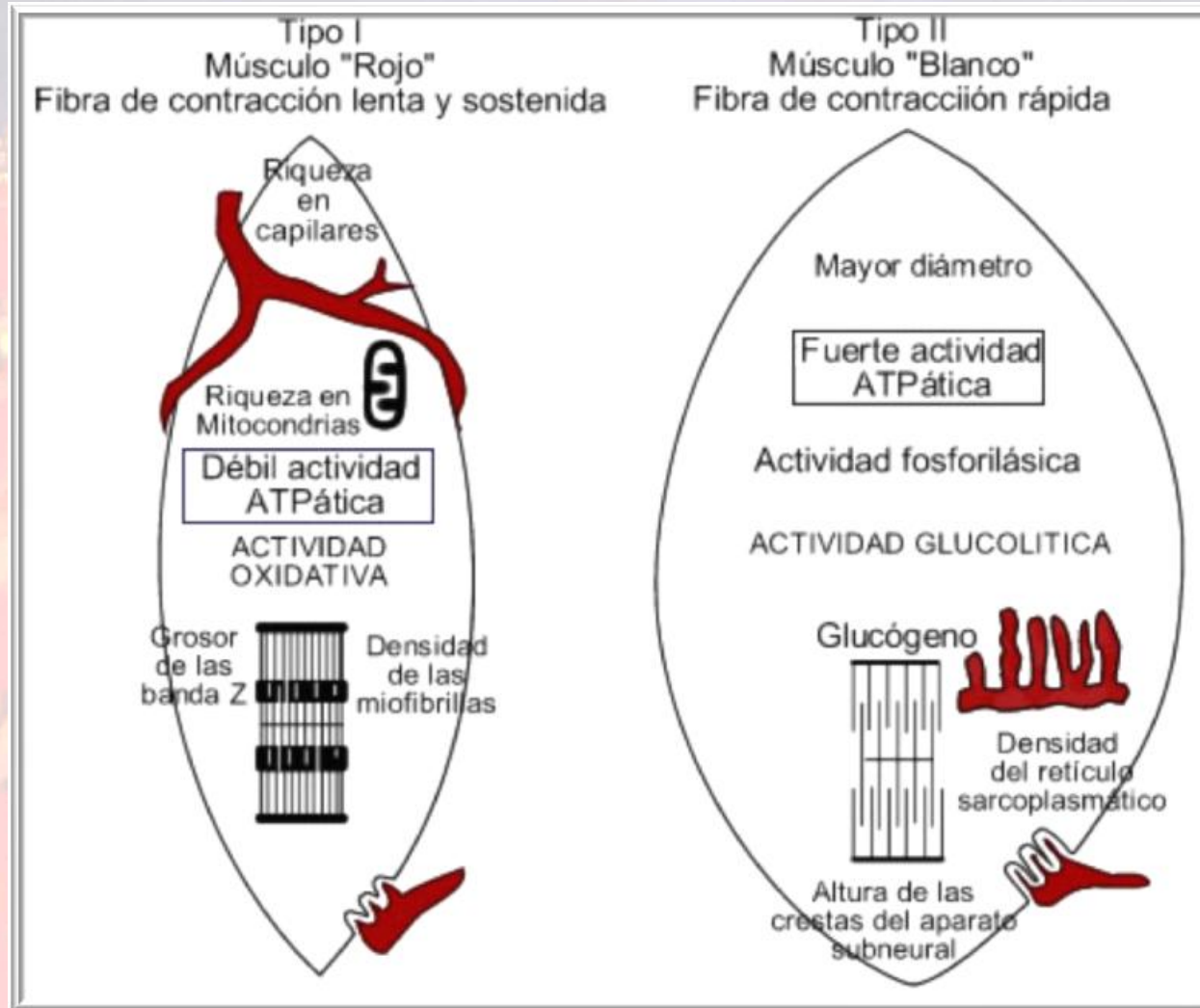
*Abundantes miofibrillas*

*Escasa mioglobina*

*Longissimus dorsi*

*6mgMb/g*

# Tipos de fibra



# Proteínas del tejido conectivo

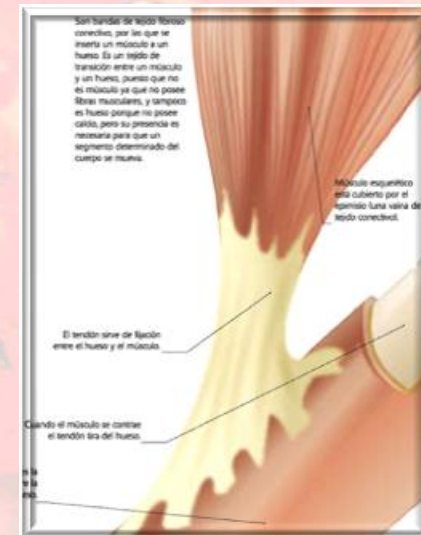
- Extracelulares – tendones, ligamentos
- Sintetizadas por Fibroblastos

Colágeno

Elastina

Otras

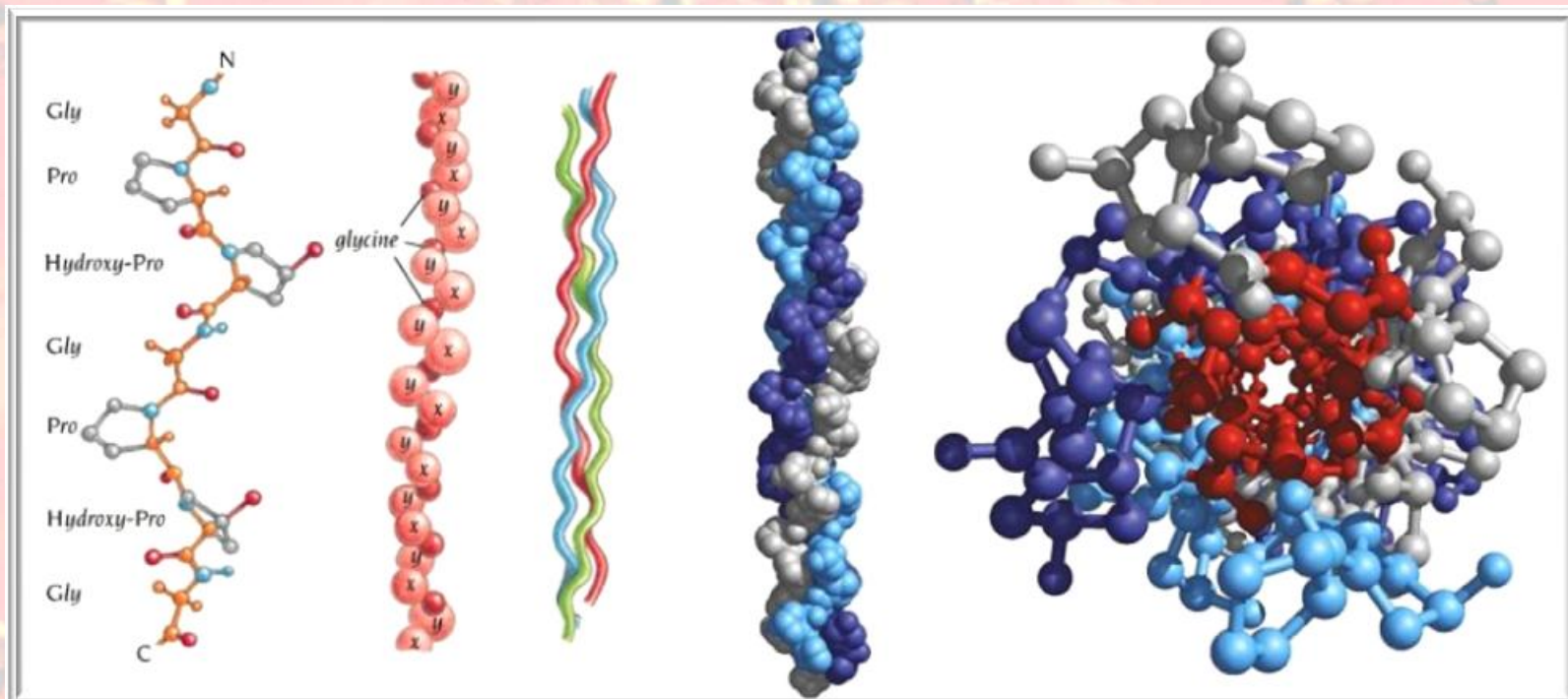
- Conexión músculo - hueso





# Colágeno

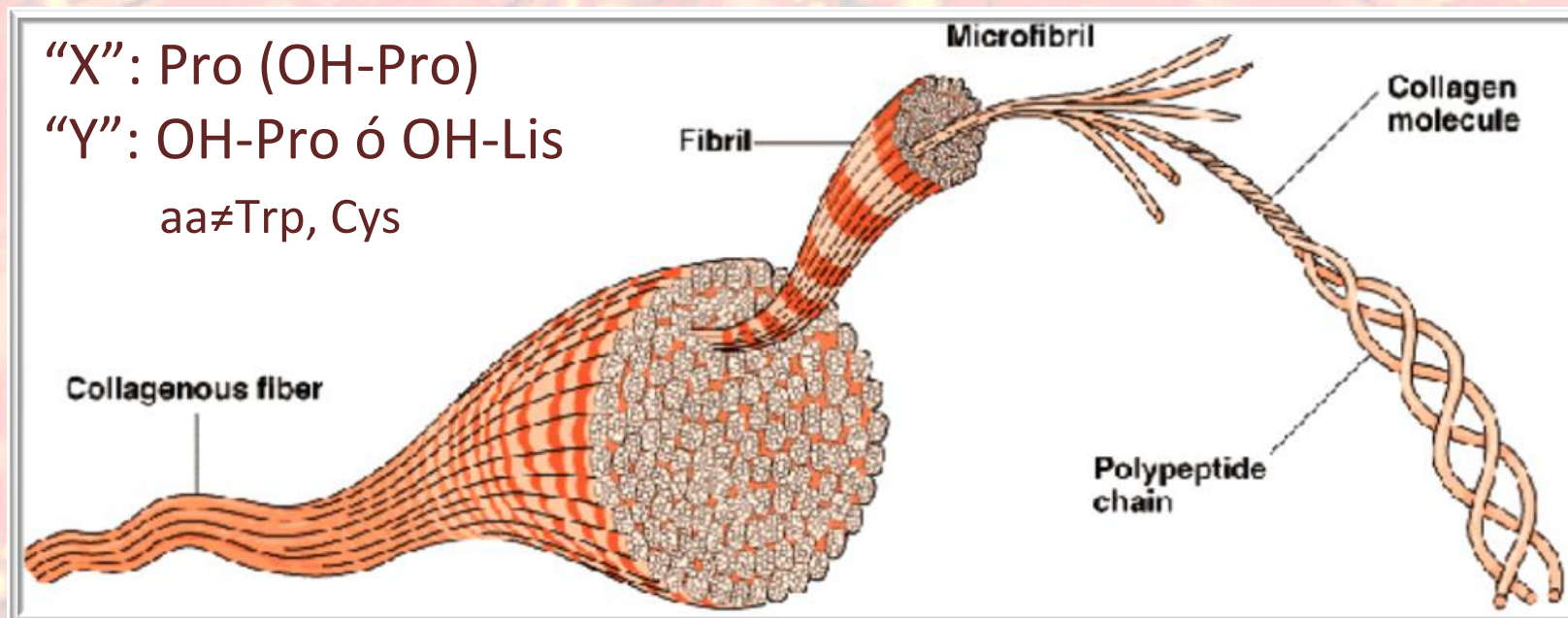
Proteína animal más abundante  
en los huesos, piel (30%Gly; 25%OH-Prol e OH-Lis)



# Colágeno

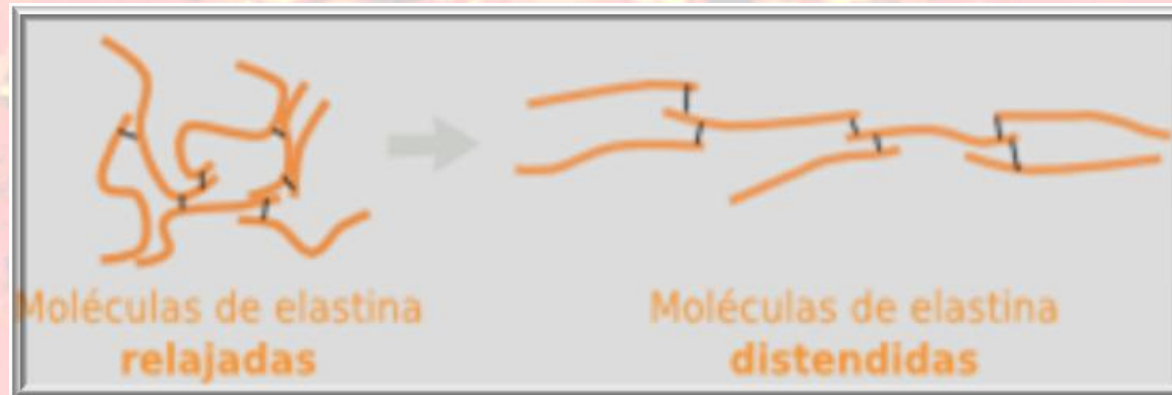
- 3 cadenas polipeptídicas alfa
- unidad: tropocolágeno

Cada cadena repite triplete Gly-X-Y



# Elastina

- Elasticidad–deformación – tensión:  
ligamentos, músculos, pared de vasos
- Gly , Ala , Val
- Insoluble, proteína fibrosa, mucha Gly

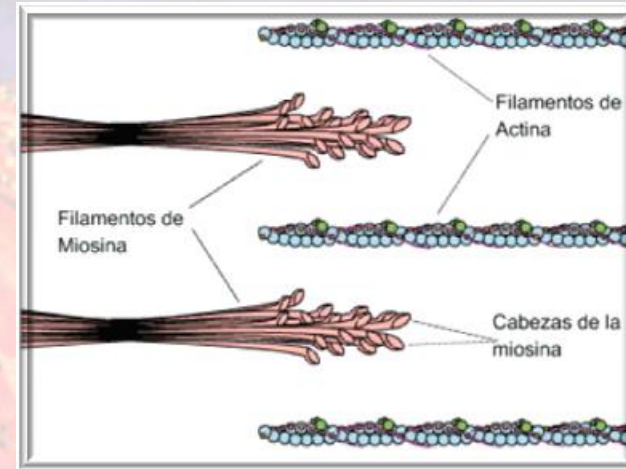




# Proteínas miofibrilares

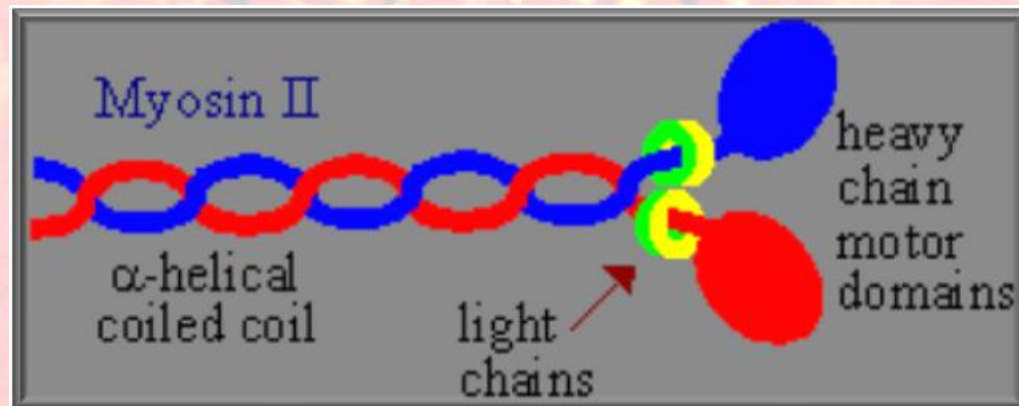
- Miofibrillas
- Sarcómero ( $2\mu$ )
- Filamentos de Miosina
- Filamentos de Actina

Actinina, proteínas C, M, F, I, miomesina, desmina, Z, titina...



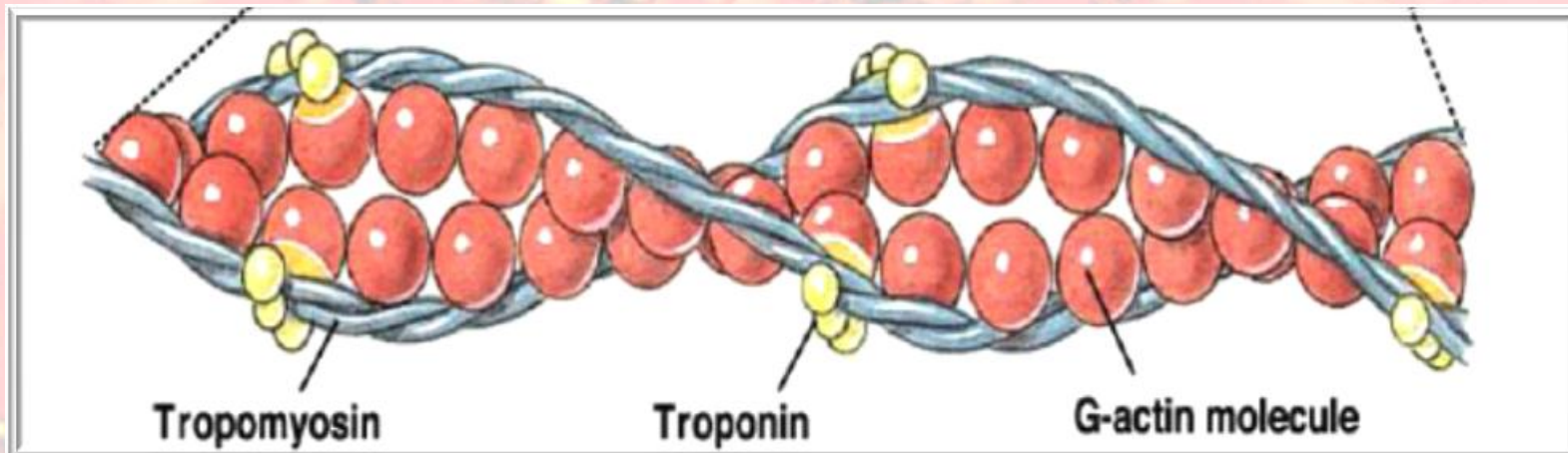
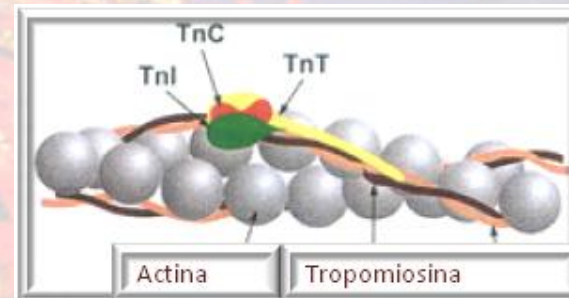
# Filamentos de Miosina

Miosina: (160nm x 2nm) (PM: 480000)



# Filamentos de Actina

- Actina
- Troponina
- Tropomiosina





# Actininas y proteínas menores

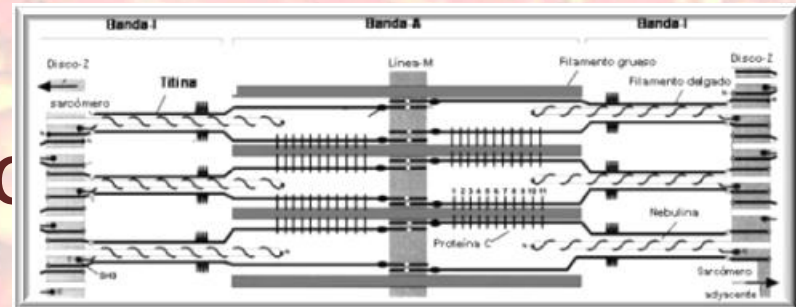
## Proteínas menores:

M, banda M, sobre miosina

C

F asociada a miofibrilo

I banda A



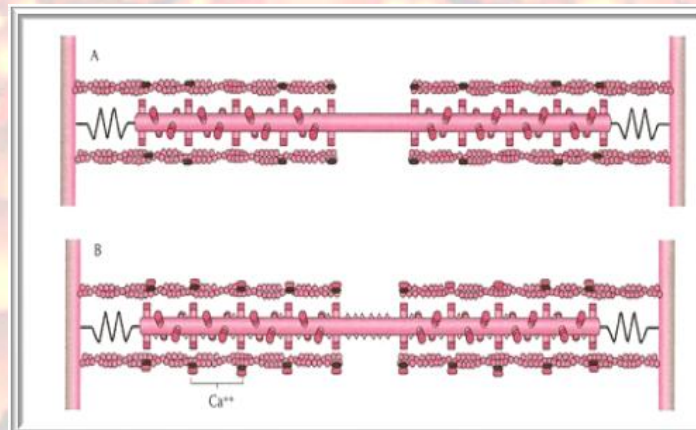
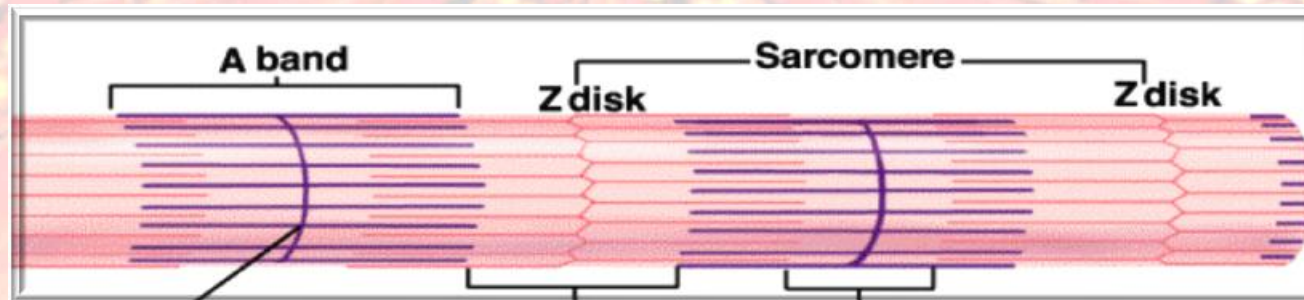
## Proteínas del Citoesqueleto:

Conectina, Desmina, Z

Otras: Vimentina, Sinemina, Paranemina

# Estructura del sarcómero

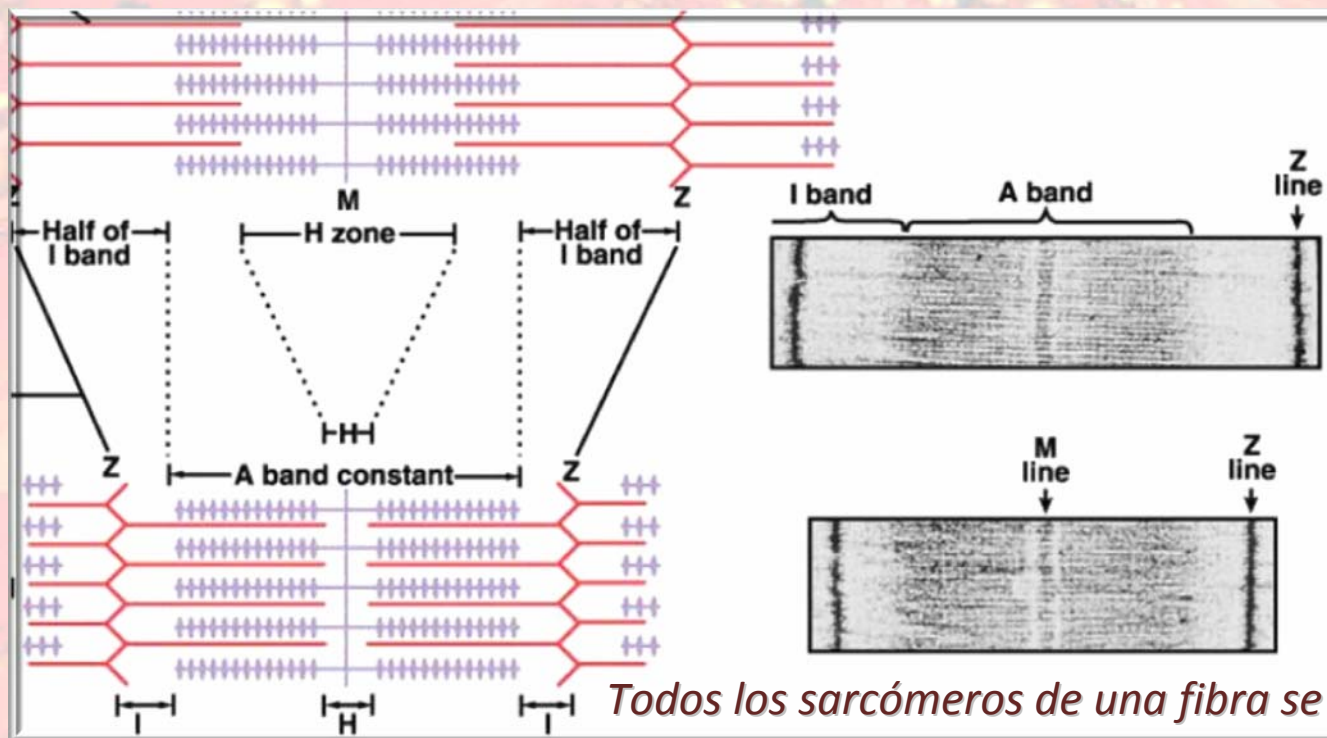
El sarcómero es la unidad funcional del músculo





# Estructura del sarcómero

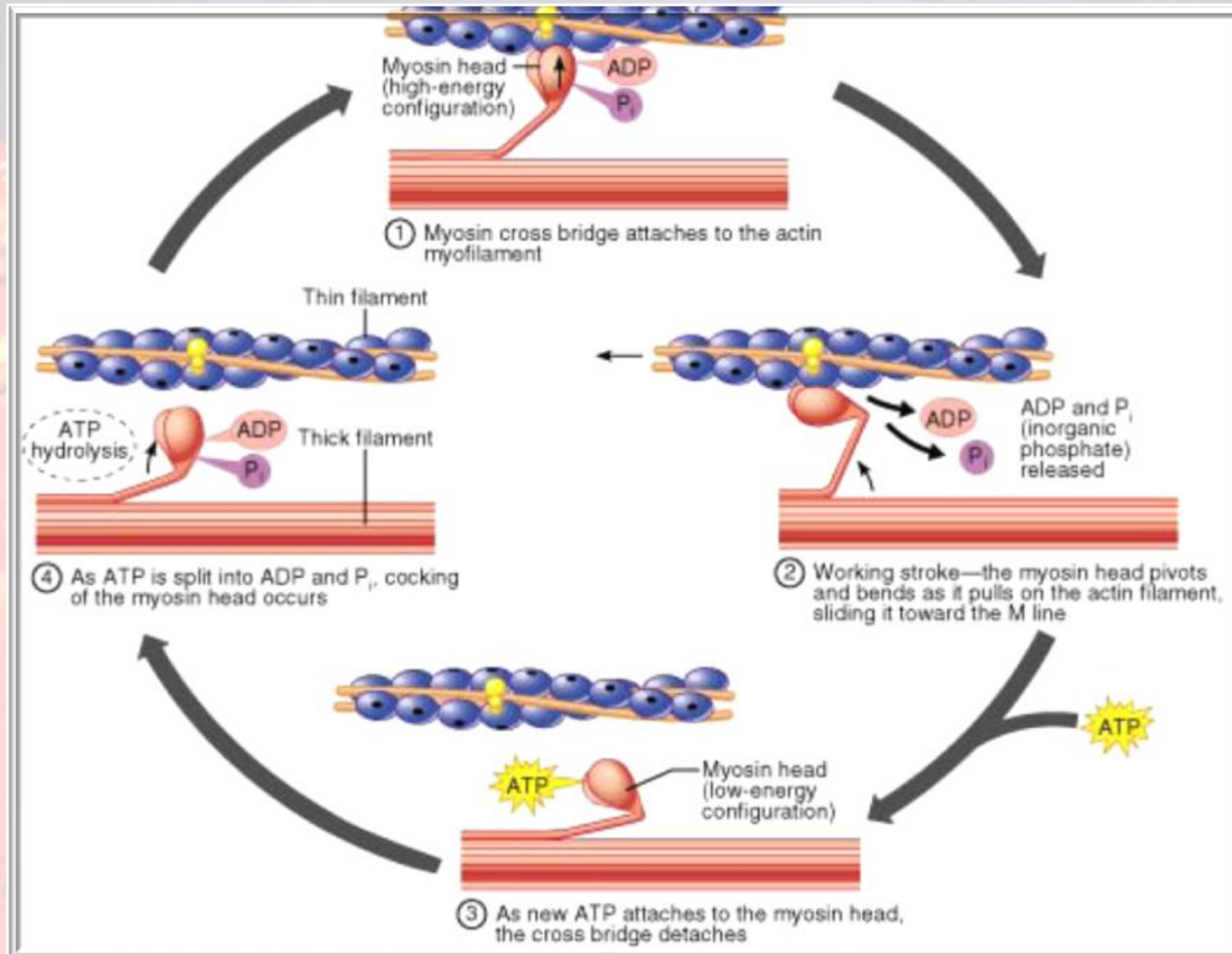
Los filamentos delgados se deslizan hacia el centro de la banda A tirando de las líneas Z a las que se anclan.



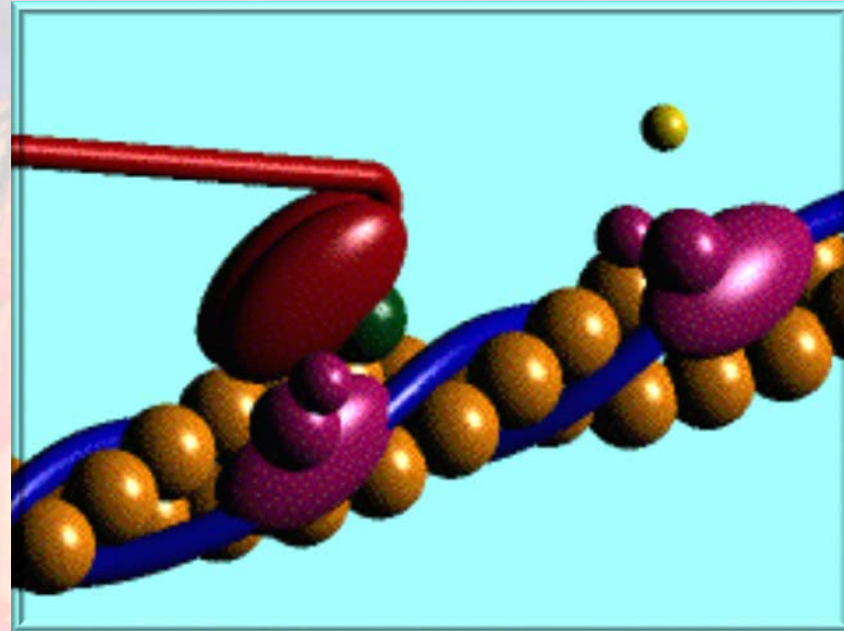
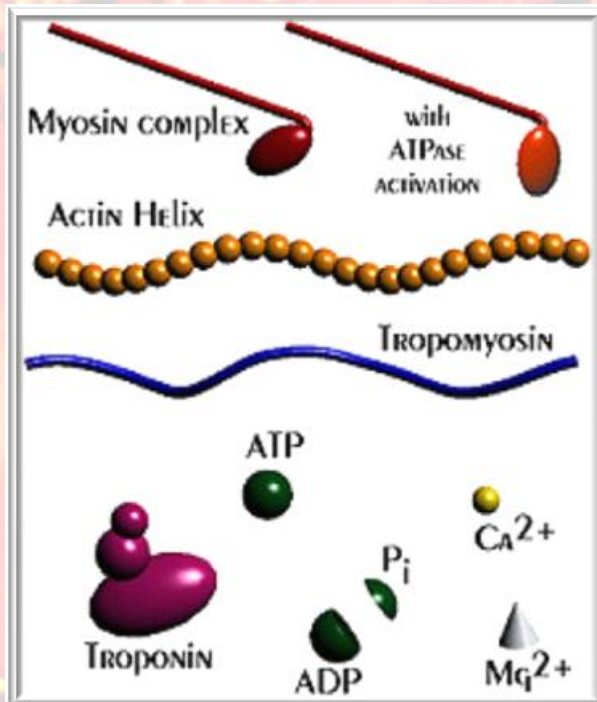
*Todos los sarcómeros de una fibra se acortan al mismo tiempo*



# Contracción de fibras musculares



# Contracción





*Luego del sacrificio del animal,*

*la carne sufre varios procesos bioquímicos,*

*que afectan distintas características de la misma*





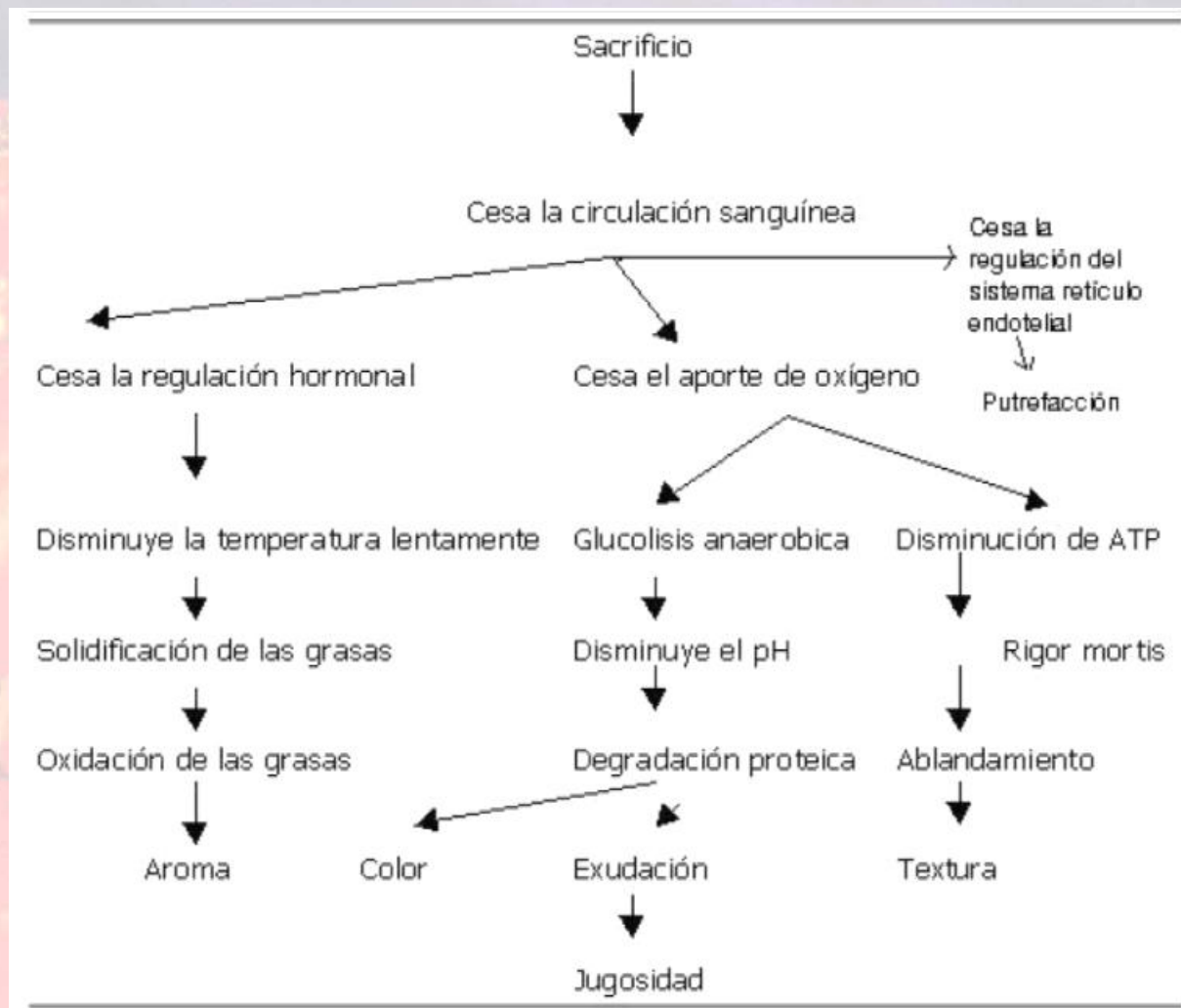
# Fuentes de Energía-ATP

Creatina Fosfato

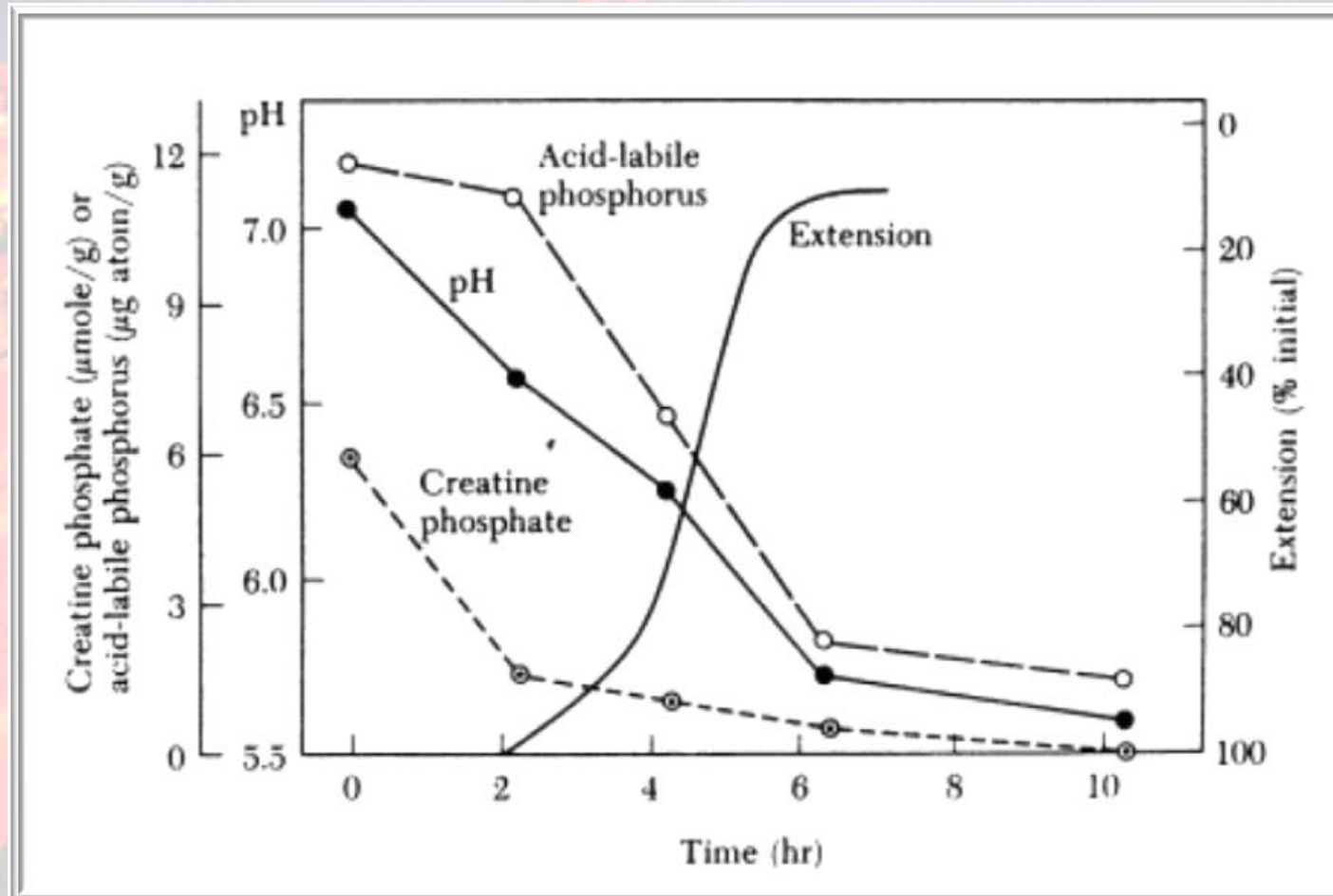
Glucosa



# Cambios *post mortem*



# Procesos *post mortem*





# Rigor mortis

- Cesa el aporte de oxígeno
- Cesa la fosforilación oxidativa y con ello el aporte de ATP aerobio
- Se activa la glucólisis y se acumula piruvato
- Desciende pH, inactiva E. metabólicas.
- Se agota ATP, actomiosina (irreversible)

# Rigor mortis

Se paraliza la circulación

↓  
Desciende el contenido en oxígeno del músculo

↓  
Desciende el potencial de oxido-reducción (de +250 a -50mV)

↓  
(Transformación de la oximioglobina en mioglobina; oxidación de la mioglobina en metamioglobina)

→ Se para la respiración celular. Comienza la glicólisis anaerobia

→ Producción de ácido láctico

→ Descenso del pH (7,3-7,4 a 5,7-5,0)

↓  
Desciende la producción enzimática de ATP, luego el contenido en ATP

↓  
Formación irreversible de actomiosina, endurecimiento

↓  
Agregación de proteínas

↓  
Descenso de la capacidad de retención del agua

# Rigor mortis

## Glucolisis Postmortem

Continúa hasta que las enzimas son inactivadas a pH 5.4-5.5; pI proteínas.

La velocidad de caída varía con la especie y con el tipo de músculo.

La velocidad de glucolisis postmortem aumenta al aumentar la temperatura externa por encima de la ambiental.



# Rigor mortis

Glucolisis *postmortem*

diferentes músculos

diferente velocidad glucolisis

diferente velocidad caída de T°

Velocidad glucolisis mayor en  
músculos que se enfrían lentamente

La aparición del RM va acompañada  
por una disminución de la CRA

# Rigor mortis

El tiempo depende de la T(°C)

Temperatura (°C)	Tiempo
-1,5	3-4 semanas
0	15 días
20	2 días
43	1 día

pasado el RM, comienza la maduración:  
resolución del RM

# Rigor mortis

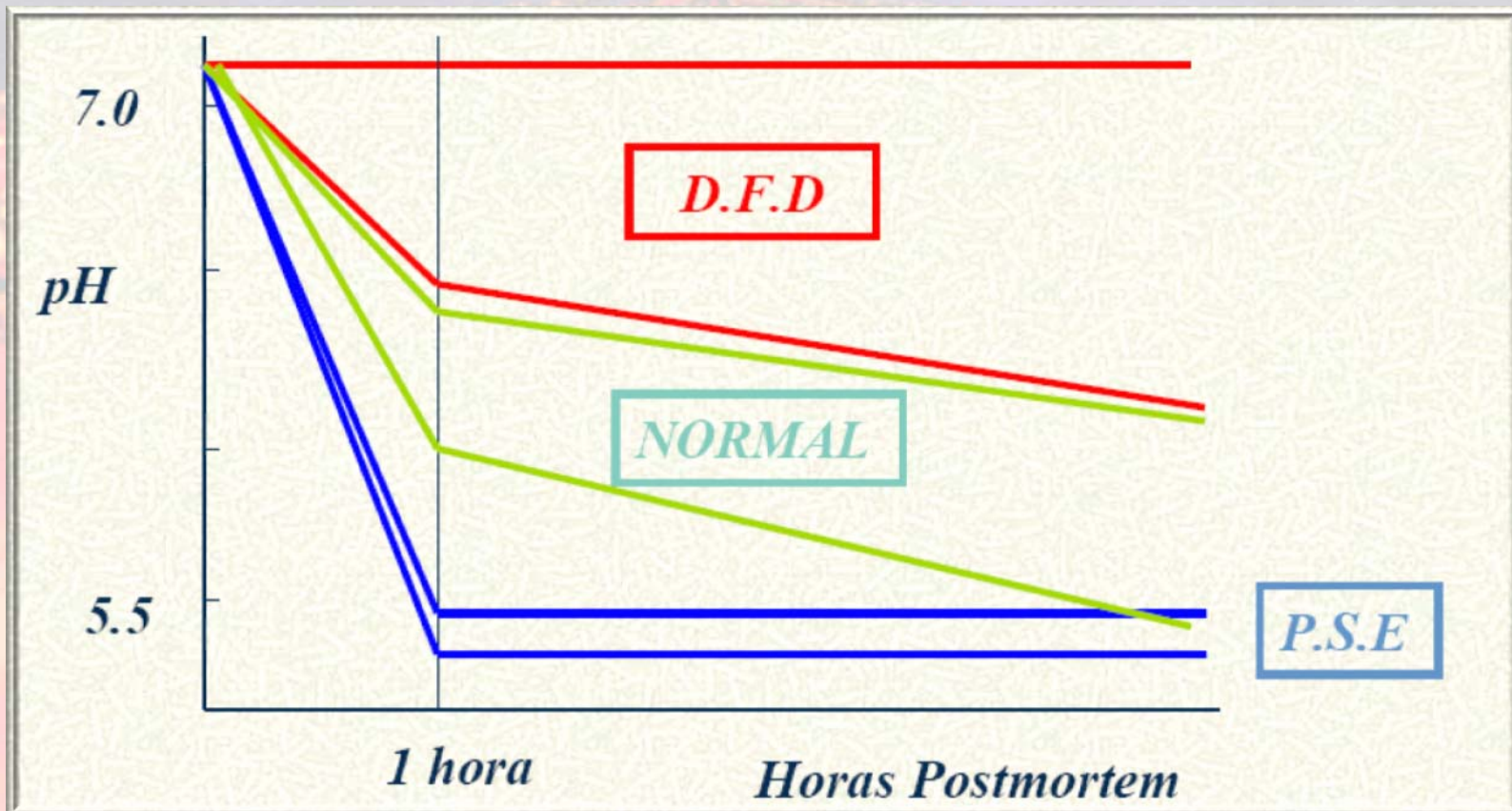
Aumenta la dureza de la carne

El tiempo en que se produce varia

Especie	Tipo de Fibra	Stress prefaena
Bovinos 10-14h	F. Blancas el pH baja más rápido que en F. Rojas.	Reservas de glucógeno
Cerdos 4-8h		DFD o PSE
Pollos 2-4h		



# Baja del pH *post mortem*



**DFD:** \*Malas condiciones prefaena  
\*Agotamiento glucóg.,  $pH_f > 6.0$   
\*Carne oscura, elevada CRA,  
sensibles a microorganismos, difícil  
conservación bajo refrigeración.

**PSE:** \*pH muy bajo en la 1<sup>era</sup>h  
cuando la carne aún esta caliente.  
\*bajo rendimiento tecnológ.  
altas mermas en productos



# Procesos *post mortem*

Pre Rigor: (0-12h *pm*)

contracción de los músculos

salida parcial del agua

cambio de color

aspecto seco



# Procesos *post mortem*

*Pre Rigor: (0-12h pm)*

*Rigor – Mortis: (12-72h pm)*

músculo rígido

pérdida de agua

oscurecimiento

mayor acidez

poco digerible

baja calidad y valor nutritivo

# Procesos *post mortem*

*Pre Rigor: (0-12h pm)*

*Rigor – Mortis: (12-72h pm)*

*Maduración (72-\*h pm)*





# Procesos *post mortem*

- Sacrificio del animal
- Metabolismo  $O_2$  a  ~~$O_2$~~
- Glucógeno a Ácido láctico
- Baja pH 7 a 5,6
- Baja Creatina Fosfato y ATP
- Falta ATP para relajación, Actomiosina
- Rigor Mortis
- Proteólisis





# Maduración de la carne

Combinación de transformaciones que se originan en el músculo de un animal de abasto, posterior al sacrificio y faenado, proporcionándole a la carne propiedades de *color*, *terneza*, desarrollo del *aroma* y cambios de *textura*

# Maduración

"CARNE FRESCA" (*carne madurada o bien envejecida*)

terneza, nutrición, digestibilidad

sabor, aroma y textura (ventajas

nutricionales)



*PROCESOS  
BIOQUÍMICOS QUE OCURREN  
DURANTE LA MADURACIÓN DE  
LA CARNE*

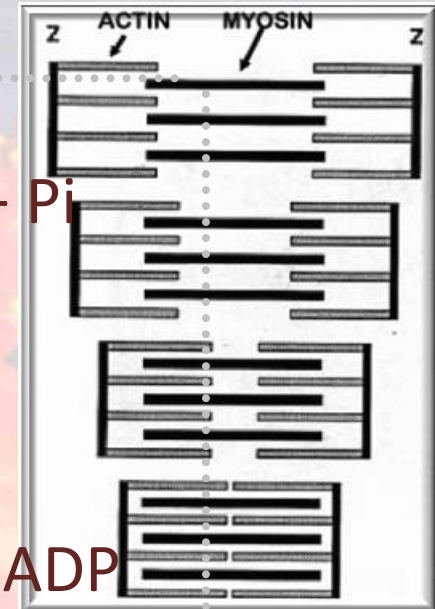




**TERNEZA**



# Proceso de contracción

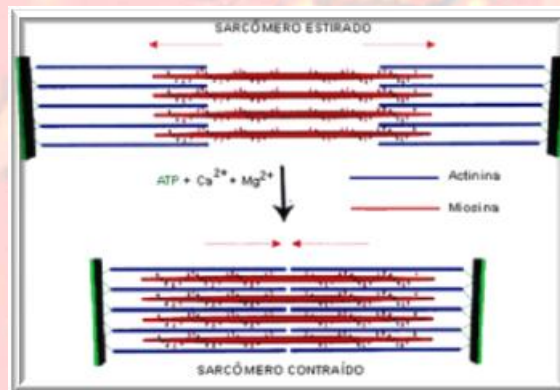


# Primeras 24h *pm*

- dureza aumenta **71%**



- acortamiento sarcómero **25%**





## Entre las 24 y 72h *pm*

- terneza aumenta
- largo sarcómero no cambia

la proteólisis *pm* es relevante en la determinación de la terneza

# Maduración

## *Terneza Inicial      Terneza Final*

Largo sarcómero

Tejido Conectivo

Grasa Intramuscular

Grado de Proteólisis

*Diferencias entre terneza final e inicial  
“tiempo de almacenamiento”*

# Maduración

(tiernización *pm*)

- Degradación proteínas miofibrilares
- Acción sistemas enzimáticos
- Desnat. tejido conect. intram.

La magnitud de la proteólisis *pm* es el mayor responsable de la variación de la terneza de la carne



# Sistemas enzimáticos

## Proteínas miofibrilares

- Catepsinas lisosomales
- Ubiquitina proteosomal
- Enzimas activadas por Ca

(calpaínas/ calpastatina)

## Proteínas del tejido conectivo

- Metallo-proteinasas de M.E.

# Familia de la calpaínas

Calpain	Pseudonyms	Tissue Type
Calpain 1	CAPN1, $\mu$ -calpain	Ubiquitous
Calpain 2	CAPN2, m-calpain	Ubiquitous
Calpain 3	CAPN3, nCL-1, p94	Skeletal muscle, lens, retina
Calpain 5	htra3, nCL-3	Ubiquitous (high in colon, small intestine and testis)
Calpain 6	CAPNX, Calpamodulin	Placenta
Calpain 7	palBH	Ubiquitous
Calpain 8	nCL-2	Stomach mucosa
Calpain 9	nCL-4	Digestive track
Calpain 10	CAPN10	Ubiquitous
Calpain 11	-	Testis
Calpain 12	-	Ubiquitous (High in hair follicle)
Calpain 13	-	Testis/Lung
Calpain 14	-	Ubiquitous
Calpain 15	Sol H	Ubiquitous
Calpain Small Subunit 1	CAPN4	Ubiquitous
Calpain Small Subunit 2	-	N/A

# Enzimas activadas por calcio

(cys-proteasas)

Proteínas endógenas del músculo:

*Calp I, Calp II, Calpastatina*

Isoformas ubicuas:  $\mu$ -Calp. y m-Calp.  
y otras específicas de tejido

*(p94 ó Calp III en músculo esquelét.)*

Asociaciones entre ternura y nivel de  
expresión del gen de p94

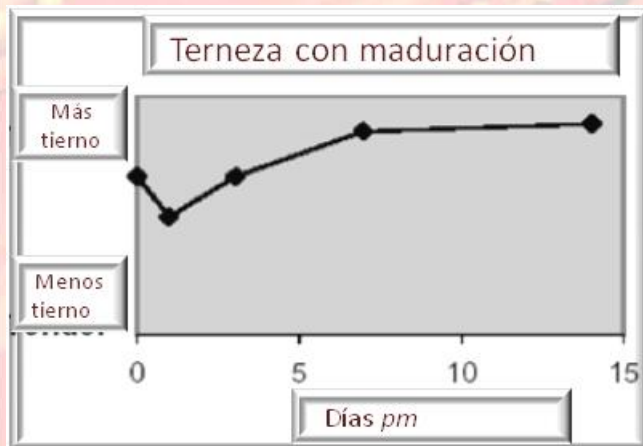
*(escasa información sobre el rol de p94 en la  
proteólisis pm)*



# Degradación de proteínas miofibrilares

Comienza 12 h *pm* ( $[Ca^{2+}]$  intracel.)

La ternera aumenta 24 y 29% a los 10 y 14 días *pm* respectivamente



\* aumento rápido  
10 días

\* aumento gradual, hasta 56% del original a los 35 días *p.m.*

# Degradación de proteínas miofibrilares

3-4 días *pm* => degradación de proteínas

- Intramiofibrilares
- Intermiofibrilares
- Costámeras (miofibrillas-sarcolema)

# Degradación de proteínas miofibrilares

*A nivel de disco Z*

- sin cambios antes de 16 días *pm*  
(degradación en banda I, cerca de disco Z)



# Degradación de proteínas miofibrilares

## *A nivel de costámeras*

- vinculina degradada por calp. (24h *pm*)
- desmina y troponina T (24 - 72h *pm*)
- distrofina (24h *pm*), desaparece 6d. *pm*
- titina y nebulina (72h *pm*)

*La proteólisis de titina y nebulina explica aumento de fragilidad de la banda I*

# Desnaturalización tejido conectivo

- 28d. *pm* (4°C) degrada proteoglicano asociado a colágeno ( $\beta$ -glucuronidasa), siendo susceptible a (MMPs)

- $[Ca^{2+}] = 0,1mM$  provoca destrucción de perimisio y endomisio

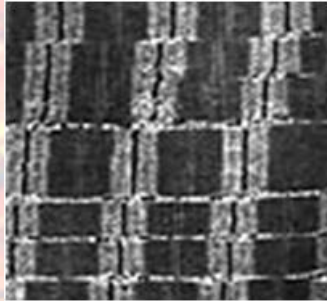
*MMPs: colagenasas* (MMP-1 y MMP-13),

*gelatinasa* (MMP-2 ó MMP-9)

*factores de activación / inhibición*

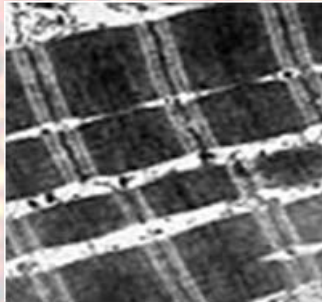


# Micrografía electrónica



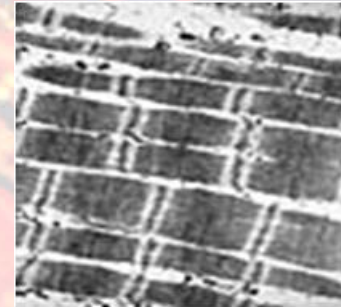
**1 h *pm***

miofibrillas intactas  
bien conservadas



**2 días *pm***

membranas  
celulares dañadas



**7 días *pm***

gran cantidad de  
membranas  
celulares dañadas



# Maduración

Proceso por el cual el músculo se va ablandando y se mejora la retención de agua.

15 días a 0°C - 2 días a 20°C

La maduración no es el proceso contrario al que origina la rigidez.

# Maduración

Colágeno no sufre modificaciones importantes.

Ablandamiento debido a calpaínas I y II, se hacen mas proteolíticas a medida que baja el pH ya que su inhibidor (calpastatina) no actúa, al final se autolisan.

Catepsinas B,D,H y L (lisosomales)

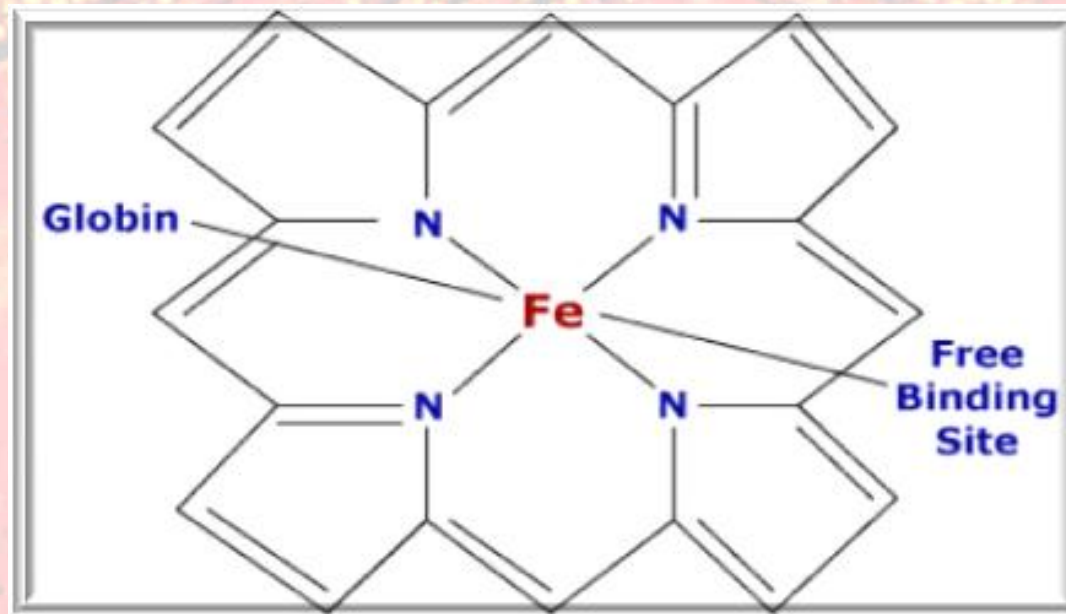
L importante (actomiosina y troponinas)

**COLOR**

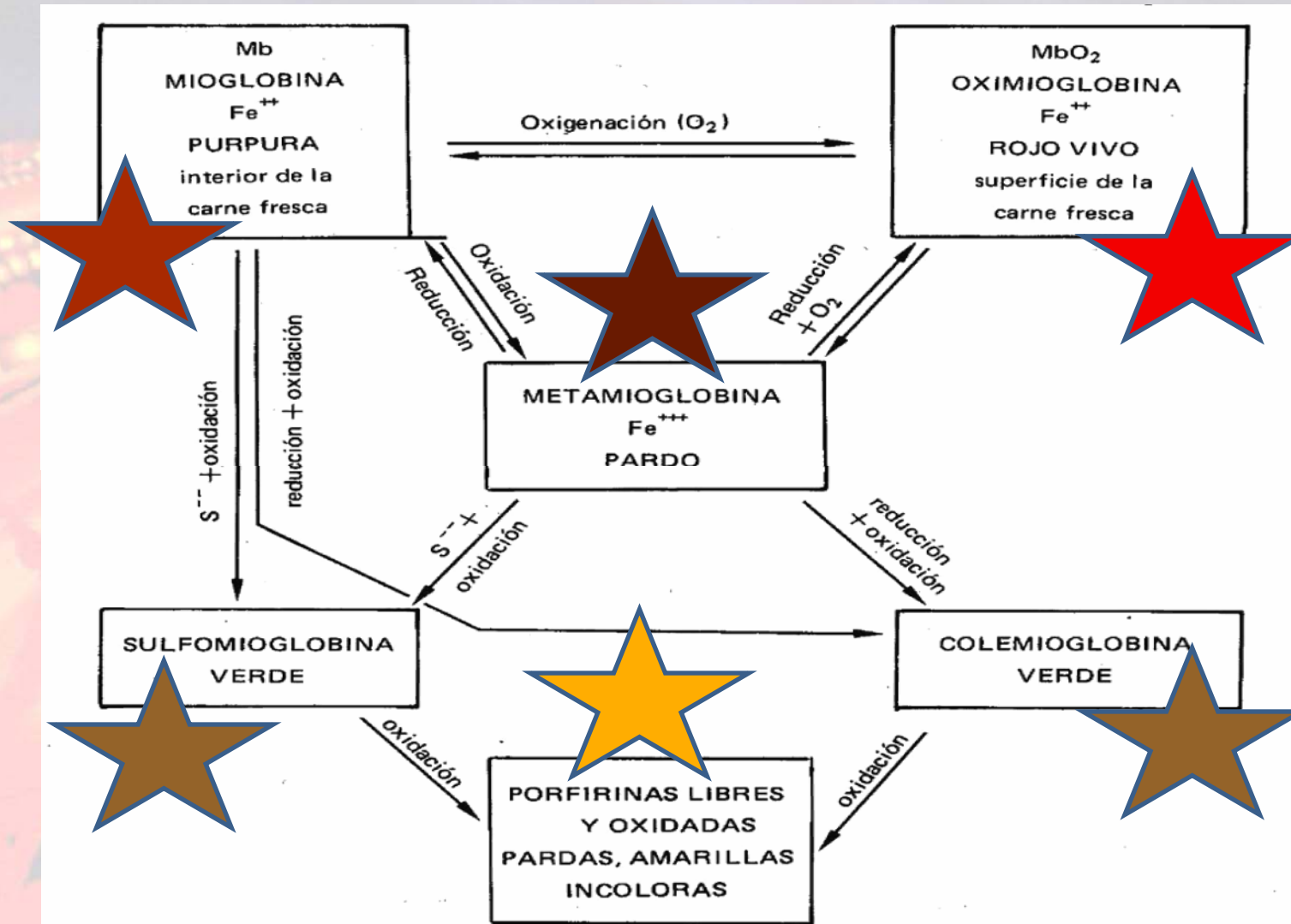




# Color: oxidación de Mb.



# Transformación de Mioglobina



# Transformación de Mioglobina

Bonds	Compound	Color	Name
Fe <sup>++</sup> Ferrous ( <i>covalent</i> )	:H <sub>2</sub> O	Purple	Reduced myoglobin
	:O <sub>2</sub>	Red	Oxymyoglobin
	:NO	Cured pink	Nitric oxide myoglobin
	:CO	Red	Carboxymyoglobin
Fe <sup>+++</sup> Ferric ( <i>ionic</i> )	-CN	Red	Cyanmetmyoglobin
	-OH	Brown	Metmyoglobin
	-SH	Green	Sulfmyoglobin
	-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Green	Choleglobin



**SABOR**



# Maduración

*Textura:* Incremento CRA (exud. jugo)

*Color:* oxid. Mb.

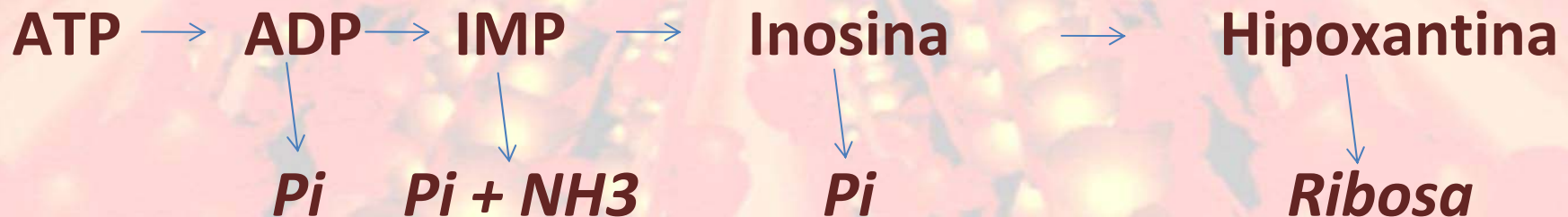
*Aroma:* hipoxantina, (en el tpo. off flavor); enranciamiento de grasas

# Cambios químicos

ADP resultante desamina y da IMP, se desfosforila y da Inosina.

La Ribosa se separa de ésta y se forma la Hipoxantina.

Liberación de amoníaco.

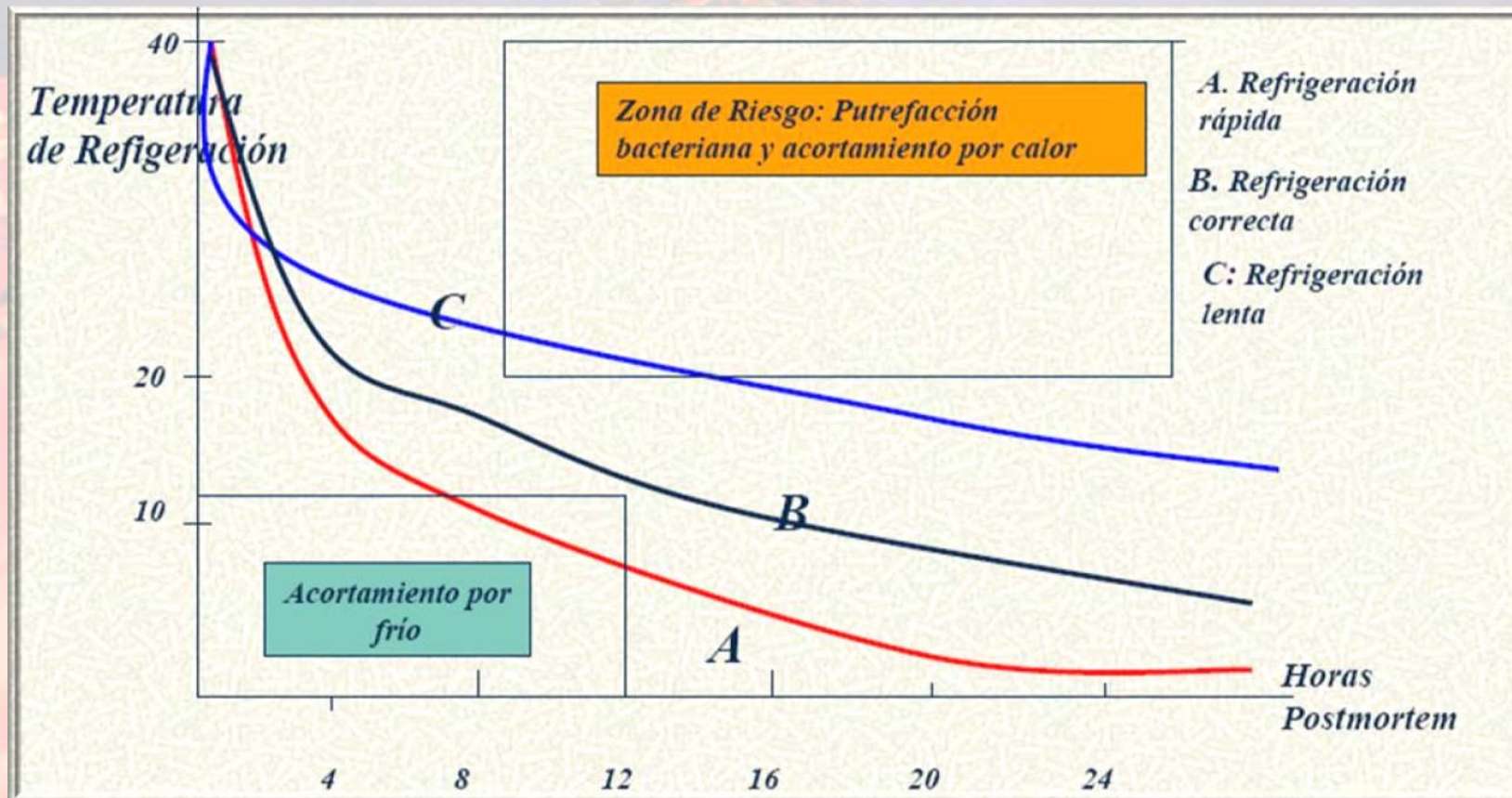




# Monitoreo de la maduración

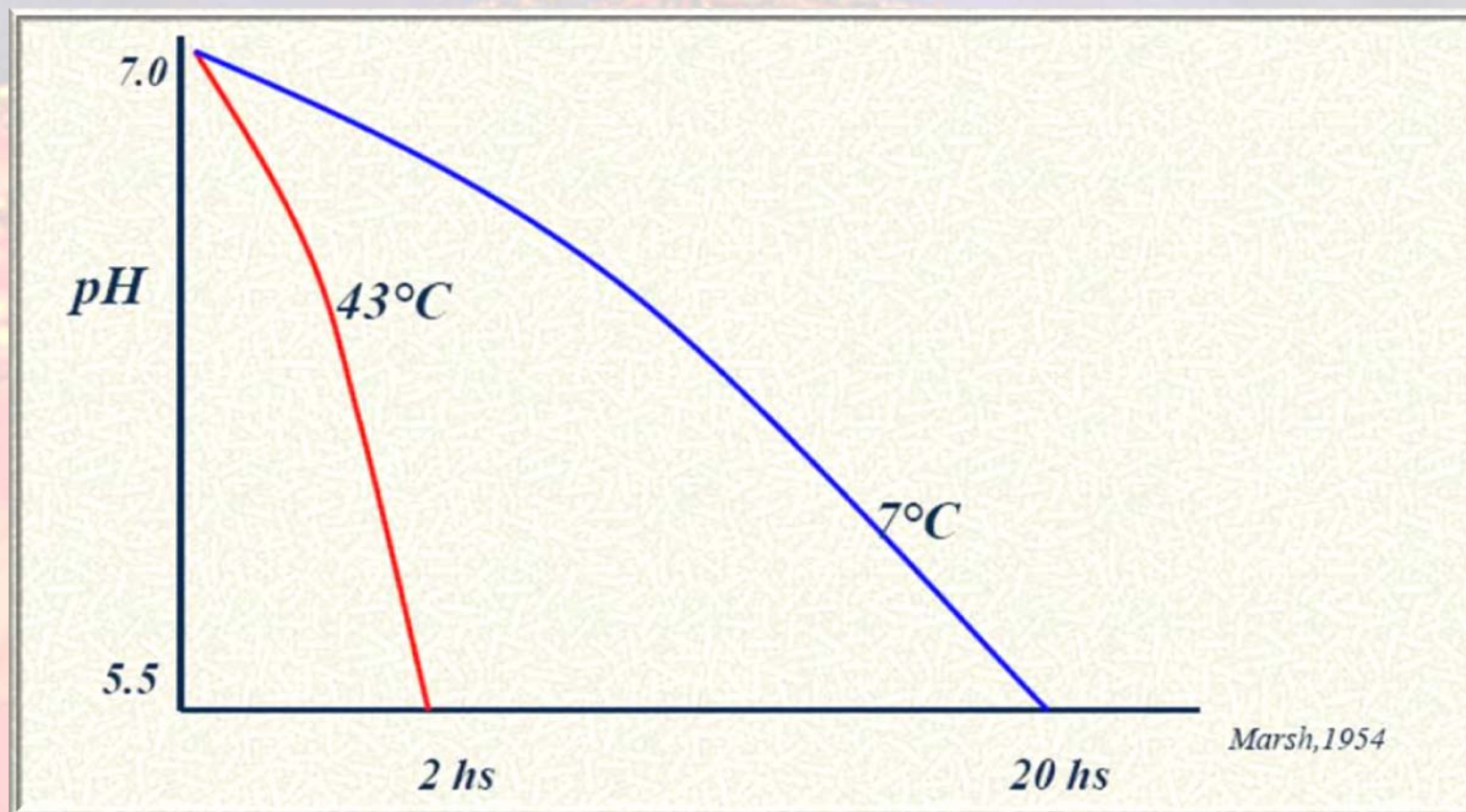
- Actividad enzimática Calp./Calpast.
- Microscopía miofibrillas
- Resistencia al corte (WB)
- Electroforesis proteínas miofibrilares
- Aminoácidos libres, Ác. Glutámico
- Perfil lipídico- Compuestos volátiles
- Color

# Acortamiento por frío



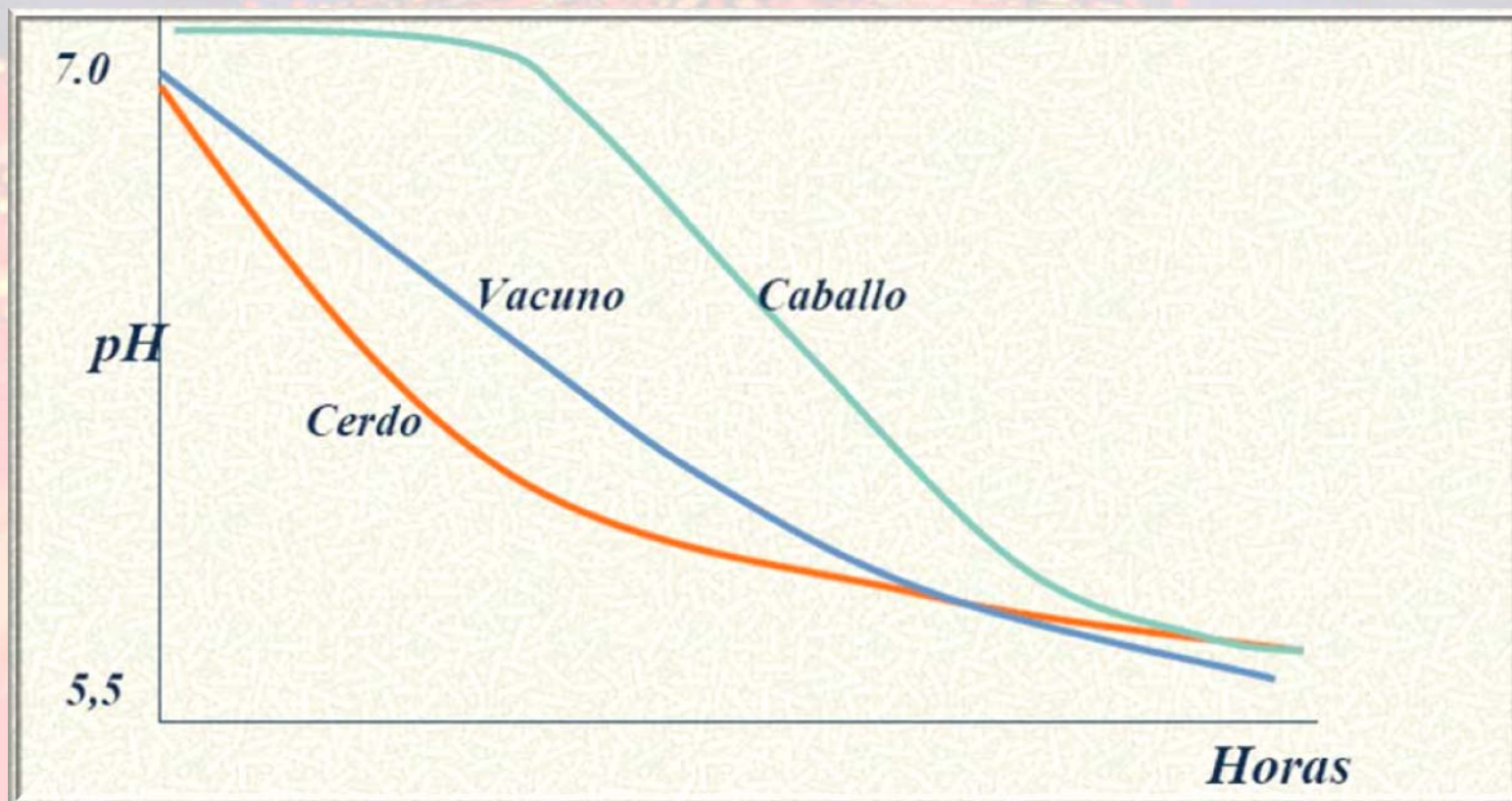


# Velocidad caída de pH según T°C





# Efecto especie en la caída del pH



# Estimulación eléctrica

Aplicación de corriente eléctrica, favorece el sangrado, acelerar R.M., evitándose contracción por frío.

Alto voltaje (300-700 V), antes de 30' pm (actúa directamente sobre los músculos)

Bajo voltaje (80-100 V) sangrado (estimula el sistema nervioso)



# Estimulación eléctrica

Descarga eléctrica → contracción muscular, consumo ATP y glucógeno, se acelera la glucólisis anaerobia, baja pH, se acelera el RM.

Permite enfriamiento rápido (2h *pm*)  
pH baja a 6-6,3 en la 1<sup>era</sup> hora.

Pérdida de jugo, color más pálido, carne más tierna, menor contracción en el rigor.



# Estimulación eléctrica

- Prevención del cold-shortening (acelerada glucolisis; RM a altas T)
- Actividad proteolítica acelerada ( $\text{Ca}^{++}$ )
- Ruptura de estructura fibrilar por contracciones extremas y liberación de catepsinas.

# Tenderstretching

- Músculos del cuarto trasero más estirados

# Tendercut

- Peso de la canal, estiramiento muscular

# Aumento de la ternura *pm*

Métodos mecánicos (picado)

Marinación (vinagre, vino, sales, fosfatos)

Enzimas

$\text{CaCl}_2$

Altas presiones

Combinaciones



# ITA (*Instituto Tecnología de Alimentos*) - INTA

**INTA**

Instituto  
Tecnología  
de  
Alimentos

© 2009 DMapas  
Image © 2009 DigitalGlobe  
© 2009 Inav/Geosistemas SRL

©2009 Google

Fechas de imágenes: 5 de Feb. de 2008 34°35'50.73" S 58°41'09.26" O elev. 13 m

Alt. ojo 252 m

## ITA (*Instituto Tecnología de Alimentos*) - INTA

“Oxidative stability of argentine beef during 19d of storage: supra-nutritional supplementation with VitE on grain and pasture production”



Pensel *et al.* ICoMST-2000

Dietas diferentes: pastura vs. suplemento VitE  
 $\alpha$ -toco.,  $\beta$ -carot., TBA, color (0, 30, 60, 90d vacío)  
Pastura + suplemento: retarda oxidación lípidos



## ITA (*Instituto Tecnología de Alimentos*) - INTA

“Argentine beef: lipid and protein oxidation and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display”



Insani *et al.* ICoMST-2000

Dietas diferentes: pastura vs. feed lot  
 $\alpha$ -toco,  $\beta$ -carot, TBA, potein oxidation, (1, 3, 5, 7, 9d  
*bandeja*)

Pastura- estabilidad oxidación lipidica/proteica



## ITA (*Instituto Tecnología de Alimentos*) - INTA

“Antioxidants enzymes activity in *Psoas major* beef muscle from different production system”



Descalzo *et al.* ICoMST-2000

Dietas diferentes: pastura vs. feed lot  
SOD, CAT, GPx, (1, 3, 5, 7, 9d bandeja)  
Feed lot- Alta CAT, GPx- no reduce oxidación  
GPx sensible a las condiciones de oxidación

## ITA (*Instituto Tecnología de Alimentos*) - INTA

“Effect of VitE-supplemented feed regimen on beef odour assessed by a conducted polymer sensors based electronic nose”



Grigioni *et al.* ICoMST-2000

Dietas diferentes: pastura vs. Suplemento VitE  
Olor por Nariz Electronica (carne fresca)  
La dieta es diferenciada

## ITA (*Instituto Tecnología de Alimentos*) - INTA

“Shelf life evaluation of refrigerated vacuum packaged beef kept for extended storage”



Rodriguez *et al.* ICoMST-2000

pH, off odors, color, TBARS, (0, 30, 60, 90d vacío)

Todos los parametros aceptables hasta 90 d.



## ITA (*Instituto Tecnología de Alimentos*) - INTA

“Color stability and tenderness relationship in ten retail beef cuts”

Picallo *et al.* ICoMST-2000

Color objetivo, WBS (carne fresca )  
Correlación entre ambos parametros

## ITA (*Instituto Tecnología de Alimentos*) - INTA

“A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina”

Descalzo *et al.* MSci-2008

Las muestras de pastos poseen niveles más altos de  $\alpha$ -toco.,  $\beta$ -carot., ácido ascórbico y glutatión que las muestras de corrales. Estos compuestos retrasan la oxidación de lípidos y proteínas en la carne fresca y almacenada, y preservan el color y el olor de la carne.

## ITA (*Instituto Tecnología de Alimentos*) - INTA

“Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina”

Insani *et al.* MSci-2008

pH, off odors, color, TBARS, (1, 3, 5, 7, 9d bandeja)

SOD, CAT estables durante el almacenamiento

GPx disminuyó

Nivel inicial superior y acción sinérgica de  $\alpha$ -toco. y  $\beta$ -carot.  
mejoran la estabilidad oxidativa y el color de la carne.



***Muchas gracias !!!!!***



***Dra. Adriana Pazos***

***apazos@cnia.inta.gov.ar***

***http://www.inta.gov.ar/***



**Darío Pighín**

**Adriana Descalzo**

**Teresa García**

**Martín Irurueta**

**Gabriela Grigioni**

**Fernando Carduza**

**Leandro Langman**

**Marina Insani**

**Luciana Rossetti**

**Sergio Vaudagna**

***Dra. Adriana Pazos- INTA***