

3.- CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA)

3.1.- GENERALIDADES

La CRA es un parámetro físico-químico importante por su contribución a la calidad de la carne (fue asociada ya por WIERBICKI *et al.*, 1957; WIERBICKI y DEATHERAGE, 1958 y HAMM, 1960) y la de sus productos derivados. La CRA de la carne está relacionada con la textura, terneza y color de la carne cruda y jugosidad y firmeza de la carne cocinada. Dicha retención de agua se produce a nivel de las cadenas de actino-miosina.

La mayor parte de los músculos post-*rigor* contienen sobre un 70% agua, dependiendo primeramente del contenido lipídico y de la madurez fisiológica del músculo (KAUFFMAN *et al.*, 1964).

Los cambios en la CRA afectan al agua que se denomina "inmovilizada" y no tienen ninguna relación con el "agua de constitución" (fuertemente ligada a grupos específicos de la molécula o ubicada en regiones intersticiales) ni tampoco con el "agua de interfase" (HAMM, 1960, 1962, 1972, 1986). El término "agua ligada" incluye tanto el agua de constitución como el agua de interfase próxima a las proteínas y el resto de las fracciones se consideran "agua inmovilizada" (en la superficie de las proteínas, en buena medida fijada a sus cargas) (FLORES y BERMELL, 1984). Solamente tratamientos muy severos (deshidratación a altas temperaturas) afecta al agua ligada.

La CRA se supone es causada en primer lugar por una inmovilización de agua de los tejidos en el sistema miofibrilar (HAMM, 1960, 1972, 1975b, 1984), más específicamente el agua es mantenida o atrapada en el músculo o producto muscular por una acción capilar que es generada por pequeños poros o capilares, teniendo en cuenta además que las miofibrillas ocupan aproximadamente el 70% del volumen total de la masa molecular; esto significa que una notable parte del agua inmovilizada debe estar localizada en los filamentos gruesos y entre los filamentos gruesos y finos de las miofibrillas (OFFER y TRINICK, 1983, HAMM, 1986).

Básicamente existen dos modelos para explicar la retención de agua por las miofibrillas:

- el coloidal (HAMM, 1960)
- el estructural (OFFER y TRICNICK, 1983)

Por otra parte cambios en la CRA son un indicador muy sensible de los cambios en la estructura de las proteínas miofibrilares (HAMM, 1972, 1975a; HONIKEL *et al.*, 1986). Así la desnaturalización de las proteínas disminuye la CRA.

El agua más fácil de extraer es el agua extracelular y de hecho es la que origina el llamado "drip loss" o "**pérdida por goteo**". Si se aplica una fuerza sobre el sistema, parte del agua inmovilizada se libera como agua perdida; mediciones de este agua liberada son usadas como indicador de las propiedades de ligar el agua de las proteínas (VADEHRA *et al.*, 1973; CHOU y MORR, 1979; REGENSTEIN *et al.*, 1979).

La disponibilidad de carga está asociada con el pH último del músculo. A pHs considerados altos (>6,0) o por debajo del punto isoeléctrico de la actomiosina (aprox. 5,0), el número de cargas disponibles está aumentado, incrementando de este modo la CRA (GAULT, 1985). Por otra parte una aproximación al punto isoeléctrico determina una pérdida de la CRA (HAMM, 1960), por la lógica disminución de cargas libres (SIERRA, 1977).

Músculos en estado *pre-rigor* tienen alta CRA y mejores propiedades de emulsificación de grasas que el músculo en estado de *rigor* o *post-rigor*. Estas mejores propiedades están directamente relacionadas con un alto nivel de ATP que resulta en un estado más relajado y una mayor hidratación miofibrilar y solubilidad (HAMM, 1972) ya que impide la unión irreversible de actina y miosina. Sin embargo JOLLEY *et al.* (1980-81) no observan influencia del nivel inicial de ATP sobre la CRA.

Tras la muerte, antes del inicio del *rigor mortis*, ocurre, debido al efecto de la disminución del pH (HAMM, 1981, 1982) y de la concentración del ATP, una reducción

del sistema miofibrilar junto con una disminución de la CRA. La instauración del *rigor mortis* se asocia a una reducción de la CRA por la liberación de iones divalentes (Ca^{++} y Mg^{++}) y la consiguiente creación de puentes que aproximan las cadenas proteicas al combinarse estos iones con los grupos reactivos negativos de las proteínas.

La liberación de gotas (pérdidas por goteo) desde el músculo parece ser dependiente del estado de contracción (GOLDMAN *et al.*, 1979) (sarcómeros contraídos, fibrillas o fibras) después de la instauración del *rigor* y es debido a la reducción del espacio filamental (HONIKEL *et al.*, 1986), quizá también cambios en la membrana celular (fenómenos osmóticos y cambios en la permeabilidad) (CURRIE y WOLFE, 1983), que resulta en una liberación del agua en el espacio extracelular, en definitiva el *rigor* (contracción) actuaría exprimiendo el músculo, que soltaría el agua por goteo a través de las superficies de corte (SIERRA, 1977).

La causa más importante para ocasionar un aumento de la CRA durante la maduración, sería el incremento del pH durante el mencionado proceso, hecho que no se produce en el trabajo sobre carne ovina de BELTRÁN (1988). Por otra parte algunos autores también señalan como causa del incremento de la CRA, la desintegración de las líneas Z por la acción de proteasas (HAMM, 1986) y por cambios en la permeabilidad de las membranas, con una cierta difusión y redistribución iónica que da como resultado la sustitución de algunos iones divalentes y el debilitamiento de las fuerzas que aproximan las cadenas proteicas.

En las "**pérdidas por cocinado**" son responsables la rotura de la membrana celular, y además las modificaciones de las proteínas en relación con el cambio en la estructura tridimensional. La mayoría de los autores consultados señalan mayores pérdidas en la carne en un cocinado lento (ABOUGROUN *et al.*, 1985; BRADY y PENFIELD, 1981; DINARDO *et al.* 1984; SEUSS *et al.*, 1986; POSPIECH y HONIKEL, 1991), mientras otros tienen una opinión opuesta (APPEL y LÖFQVIST, 1978; CHOUN *et al.*, 1986). Finalmente existe otra postura que señala que el grado de cocinado no afecta la CRA del tejido muscular (TYSZKIEWICZ *et al.*, 1966). Sin embargo es preciso destacar también el factor tipo de cocinado (no sólo tiempo) en función de la

temperatura, presencia de agua, calor directo, tamaño, grosor y preparación previa de la pieza (SIERRA, 1977).

3.2.- FACTORES DE VARIACIÓN

3.2.1.- Intrínsecos

3.2.1.1.- Tipo de músculo

Existen diferencias entre músculos de un mismo animal (LABORDE *et al.*, 1985) o incluso se han señalado variaciones dentro del mismo músculo.

La relación agua/proteína influiría en la capacidad de retención de agua; disminuyendo conforme aumenta esta relación.

Existe una mayor preponderancia de músculos rojos que tienen un mayor pH último y mayor CRA en la espalda que en el lomo o la pierna (LÓPEZ-BOTE y WARRISS, 1988); concordando con los resultados de FORCADA (1985) en ovino donde la menor CRA corresponde a los músculos del tercio posterior y lomo, y la mayor a los del tercio anterior.

3.2.1.2.- Especie

En general, el ganado porcino tiene carnes más exudativas al ser más sensible al estrés, en los bovinos existe una tendencia a producir carnes DFD, ocupando el ovino una posición intermedia.

3.2.1.3.- Raza

En el ganado bovino la CRA tiende a disminuir cuando el desarrollo muscular (hipertrofia de tipo culón) aumenta, muy relacionado con lo que ocurre en porcino con ciertas razas selectas muy mejoradas (Pietrain y Blanco Belga).

En los ovinos las diferencias raciales no parecen muy marcadas. No obstante parece ser que razas más precoces tendrían una menor CRA (HAWKINS *et al.*, 1985).

3.2.1.4.- Sexo

No parece ser muy importante, aunque algún autor muestra alguna influencia (KAUFFMAN *et al.*, 1986a), posiblemente debido al mayor engrasamiento de las hembras (SIERRA, 1977).

3.2.1.5.- Edad

En los bovinos el poder de retención de agua disminuye con la edad siendo menor el porcentaje de jugo exprimible en la carne de ternera que en la de vaca. En ovino, SAÑUDO y SIERRA (1982) y LÓPEZ (1988) indican que en animales de mayor edad hay una menor CRA.

3.2.2.- Extrínsecos

3.2.2.1.- Manejo pre-sacrificio

Como ya se dijo en el pH, influye el transporte, ayuno, sacrificio, oreo, etc. VRCHLABSKY (1967) encontró que la CRA de la carne disminuía en animales mantenidos largos períodos sin agua y comida, aunque 24 h. de transporte incrementaba CRA.

Los antitiroideos (metiltiouracilo) se utilizaron durante tiempo en alimentación del ganado con objeto de aumentar el peso del animal para obtener un mayor rendimiento. Estas sustancias producen un aumento de la retención de líquidos, lo que supone un fraude económico, por lo que está prohibido su administración desde 1973.

Según ALLEN *et al.* (1988) la CRA fue ligeramente reducida en un tratamiento por cimaterol, hecho no confirmado por SOMMER *et al.* (1988) ni por FIEMS *et al.*

(1990).

Las carnes hormonadas se caracterizan por una excesiva retención de agua, que se libera durante el cocinado quedando al final una carne seca, insípida y descolorada. Afortunadamente, en la actualidad está prohibida la utilización de estos productos en el cebo.

En cerdos la suplementación de la dieta con vit.E mejora la CRA al disminuir las pérdidas por goteo (CHEAH *et al.*, 1995).

3.2.2.2.- Estimulación eléctrica (E.E.)

En condiciones de E.E. moderada LAROCHE (1980) no observó nunca influencia negativa. Este hecho puede aprovecharse para permitir un calentamiento inmediato de los cortes que hayan de industrializarse y deben conservar todavía gran CRA. Según WHITING *et al.* (1981) el efecto de la E.E. es inconsistente y generalmente mínimo.

3.2.2.3.- El pH

Como ya se ha comentado anteriormente el pH es un factor importante ligado a la CRA, presentando una correlación de 0,927 (THOMSEN y ZEUTHEN, 1988). El incremento en la CRA en el intervalo de medida del pH desde 5,40 a 5,85 corresponde claramente con la curvatura pH-CRA señalada por HAMM (1960).

3.2.2.4.- Grado de acidificación

La velocidad y el grado de acidificación de los músculos después del sacrificio tienen un profundo efecto sobre la palidez y la consistencia y el grado de pérdidas de fluidos por exudación (carne PSE). Esto viene determinado por una mayor desnaturalización de las proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas solubles (OLIVER *et al.*, 1989).

3.2.2.5.- Temperatura

Además de todo lo comentado anteriormente, la interacción pH-temperatura es especialmente importante en músculos profundos de la canal donde la refrigeración rápida no tiene efectos apreciables en la disminución de la temperatura (carnes PSE).

Con respecto al calentamiento varios estudios (SANDERSON y VAIL, 1963; MARTENS *et al.*, 1982) han demostrado que un incremento de la temperatura produce un aumento de las pérdidas por cocinado; el punto final de temperatura alcanzado ($P < 0,001$) afecta a dichas pérdidas. La elevación de la temperatura interna tiene un efecto significativo en el agua libre y ligada (0,01 y 0,001 resp.). La temperatura óptima para conversión de agua ligada en agua libre encontrada por RITCHEY y HOSTETLER (1964) fue de 70°C. Calentando el músculo a mayores temperaturas disminuye la CRA debido a la agregación de los sistemas proteicos.

La disminución de la CRA se aprecia a partir de los 40°C (WIERBICKI *et al.*, 1963) y la modificación más importante tiene lugar entre los 40 y 50°C. La duración del calentamiento influye poco en la CRA (HAMM e IWATA, 1962). Una modelización empírica de la disminución de la CRA ha demostrado (LAROCHE, 1982) que la duración del calentamiento influye como máximo en el 10% de la disminución de la CRA, a temperaturas de calentamiento relativamente bajas (50-60°C).

3.2.2.6.- Congelación

La acción de formación de hielo en la rotura del tejido muscular y en el descenso de la CRA es bien conocida (JALANG *et al.*, 1987). La formación y modificación de cristales de hielo conducen a una redistribución del agua, que afecta a su reentrada en los sitios originales (rehidratación proteica y CRA) resultando una eliminación de agua de los tejidos como exudado (CONNELL, 1968; MATSUMOTO, 1979). CALVELO (1981) explica la pérdida de CRA del tejido por la acumulación de solutos y su relación

con las membranas, además de la distorsión del tejido resultado de la formación de grandes cristales extracelulares.

Las pérdidas de peso que sufren los músculos durante la descongelación son menores al estar los músculos unidos al esqueleto; esto tiende a reducir la exudación al mínimo. Deben descongelarse lentamente para reducir el goteo al mínimo (YEATES, 1967).

Todo ello obliga a realizar los estudios de evaluación de calidad de carne sin congelar (SIERRA, 1977).

3.2.2.7.- El picado

Muestras picadas retienen significativamente menor humedad que las muestras enteras ($P < 0,001$), esta diferencia es esperada pues se produce un daño estructural en el picado (BOUTON *et al.*, 1971).

3.2.2.8.- Adición de polifosfatos y sales

Los polifosfatos usados como aditivos, constituyen una gama de productos denominados "retenedores de agua" pues son polielectrolitos que se encuentran fuertemente cargados negativamente por lo que atraen moléculas de agua facilitando su retención. El equilibrio entre agua libre y ligada se desplaza en función de las condiciones del medio. Los polifosfatos actúan como secuestrantes, mediante los complejos Ca^{++} y Mg^{++} influyendo así en la retención de agua, pues complejan las cationes disminuyendo sus enlaces, abren las cadenas peptídicas y el medio se hidrata. Los fosfatos alcalinos ayudan a retener el agua que exuda en los ciclos de congelación-descongelación.

Añadiendo cloruro sódico a la carne se puede cambiar el punto isoeléctrico hacia menores pH, y a valores de pH mayores de 5, la presencia de sal da lugar a un incremento de la capacidad de retención de agua (SCHUT, 1976). Por otra parte la sal

incrementa la solubilidad de las proteínas del músculo y la CRA (HAMM, 1960).

Para ALJAWAD y BOWERS (1988) el agua ligada se incrementa ($P < 0,001$) con la adición de NaCl, mientras que el agua libre disminuye ($P < 0,001$). Observaciones similares en medidas de CRA son señaladas por LYON (1980) y JOLLEY *et al.* (1981).

3.3.- MÉTODOS DE MEDIDA

Existe un gran número de métodos para intentar determinar la CRA del músculo. Aunque algunos de ellos presentan ciertas ventajas, lo cierto es que no es posible comparar los valores absolutos obtenidos con diferentes métodos, ya que cada uno tiene su fin (TROUT, 1988).

Se basan en la aplicación de una fuerza, que puede ser presión o de succión, sobre una muestra de carne, provocando la expulsión de cierta cantidad de agua de la muestra. La presión puede ser ejercida también por la contracción durante el almacenamiento o el calentamiento.

KAUFFMAN *et al.* (1986b) los clasifican en 4 grupos:

1.- Métodos basados en una pérdida de peso:

- a) Pérdidas por goteo. Basado en la pérdida de peso de la muestra de carne tras mantenerla en unas determinadas condiciones de almacenamiento (TAYLOR y DANT, 1971; HONIKEL *et al.*, 1980).
- b) Pérdidas por cocinado (LEE *et al.*, 1978). Se basa en el cálculo del agua expulsada a partir de una muestra de carne, una vez que ha sido sometida a cocción en un baño de agua en ebullición.

2.- Técnicas de laboratorio:

- a) Centrifugación: a baja velocidad (WIERBICKI *et al.*, 1962) o alta velocidad (BOUTON *et al.*, 1971).
- b) Test de porcentaje de transmisión basado en las variaciones de la

solubilidad de las proteínas (HART, 1962).

c) Test de permitividad: capacitancia eléctrica y ratio de constante dieléctrica (GRANT *et al.*, 1978).

3.- Métodos de presión en papel de filtro (GRAU y HAMM, 1953).

4.- Otros métodos rápidos:

a) Método del volumétrico-capilar (HOFMANN, 1975), se basa en la curva presión-volumen resultante de la aplicación de incremento de presión.

b) Test de absorción: absorción de exceso de fluido (KAUFFMAN *et al.*, 1986a).

Otros métodos que empiezan a emplearse son:

- La Técnica de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) (TROUT, 1988 y KOPP, 1988) basado en la medida del tamaño de los poros y capilares en los que el agua esta inmovilizada. Esta técnica resulta interesante al no ser invasiva y no modificar la microestructura, pero precisa instrumental de elevado precio.

- Uso de un espectrofotómetro de fibra óptica (SWATLAND y BARBUT, 1990, 1991). Los tejidos conectivos en la carne son fuertemente fluorescentes cuando son excitados a 370 nm. Es posible medir un amplio rango de propiedades como es la capacidad de retención de agua y funcionalidad de proteínas relacionadas con el pH.

- La Fibra Óptica de Calidad de Carne (FOP) midiendo la dispersión interna de la luz en el músculo, el Quality Meter (CE) determinando la conductividad eléctrica y el Reflectómetro (GOFO), predicen la CRA, siendo capaces de discriminar entre canales PSE y normales (DIESTRE *et al.*, 1989).

- El tensiómetro (KIM *et al.*, 1995) detecta las variaciones de los fluidos libres en el músculo, puede utilizarse de forma rápida sin alterar el valor comercial del producto,

aunque tiene el inconveniente de que en ocasiones no funciona correctamente.

Estos métodos a veces son utilizados conjuntamente pues las limitaciones de cada uno aparecen complementadas o paliadas por la utilidad del otro.

Existen varios métodos efectivos que determinan la CRA pero la decisión de su uso depende de diversas circunstancias incluyendo el tiempo requerido, coste inicial, adaptabilidad, tipo de producto a ser medido y propósito del estudio.

Así el método que más se adapta a nuestras necesidades ha sido: el **método de compresión** (CHILDS y BALDELLI, 1934; GRAU y HAMM, 1953, 1957; WIERBICKI y DEATHERAGE, 1958), también denominado "método de presión del papel de filtro" (KARMAS y TURK, 1976). Nosotros emplearemos una variante del método de GRAU y HAMM (1957) desarrollada por SIERRA (1973a), que será descrita en la metodología.

Se basan en la medida del agua expulsada por una muestra de carne al aplicarle una presión elevada (peso o por ajuste con tornillos) por medio de dos placas de vidrio o metacrilato. La determinación del agua expulsada se puede realizar de 3 formas: por diferencia de pesada de la carne antes y después o del papel de filtro que ha absorbido el agua, por cálculo del área de este papel de filtro, sin tener en cuenta la zona ocupada por la carne una vez comprimida o por un sistema óptico electrónico (análisis de imagen) (BARGE *et al.*, 1991).

Es un método muy utilizado por su rapidez, fiabilidad y sencillez, detecta las pequeñas diferencias de CRA (TSAI y OCKERMAN, 1981). Adecuado sobre todo para mediciones en carne fresca así como las pérdidas durante el almacenado en refrigeración (KAUFFMAN *et al.*, 1986b), aunque no es útil en muestras que contengan gran cantidad de grasa o agua (GRAU y HAMM, 1957; TSAI y OCKERMAN, 1981).

No obstante hay que tener en cuenta según ZHANG *et al.* (1993) en la realización de este método que la CRA disminuye con la presión ejercida y con la duración del test, así como disminuye con el tamaño de la muestra y con la

concentración de sal.

TSAI y OCKERMAN (1981) encuentran altas correlaciones ($r= 0.88-0.99$) significativas entre este método (WIERBICKI y DEATHERAGE, 1958) y el método de centrifugación (MILLER *et al.*, 1968). El método de compresión (GRAU y HAMM, 1957) es más rápido y más fácilmente reproducible que el método de centrifugación a baja velocidad de WIERBICKI *et al.* (1957) o la técnica de ultracentrifugación de BOUTON *et al.* (1971).