

El uso de la estimulación eléctrica como método de alternativa en la maduración de la carne de animales de países afectados por fiebre aftosa.

W. GARCÍA VIDAL, C. CORREA, H. LAZANEO, S. HUERTAS y V. URRESTARAZU.

Instituto de Carne, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

Introducción.

La fiebre aftosa (FA) es una de las enfermedades de los animales que se ha caracterizado por distorsionar el comercio internacional de la carne. Como consecuencia se producen serios trastornos en los países exportadores de carne afectados por tal noxa, debido a los distintos tipos de restricciones aplicadas por países importadores libres de tal enfermedad.

Uno de los requerimientos de los países de la Comunidad Económica Europea (CEE) para países exportadores de carne, afectados con FA, es la maduración de la carne durante 24 horas en cámaras de enfriado, a una temperatura ambiente no inferior a + 2°C (EEC, 1972; EEC, 1978). El objetivo de tal reglamentación es asegurar el descenso del pH por debajo de 6.0 previo al deshuesado de la carne para garantizar la inactivación del virus de la FA (VFA) que pudiera estar presente en el mismo. Esto produce una demora en los sistemas convencionales de producción de carne deshuesada al determinar un entecimiento en la obtención de la temperatura interna del músculo, requerida para dicho proceso, según la citada reglamentación (EEC, 1972).

Diversos estudios han sido realizados para determinar la supervivencia del VFA en carne y productos cárnicos, como asimismo lo relacionado con su inactivación por distintos métodos. Cottral et al., (1960) determinaron que los cambios químicos, especialmente la concentración de hidrogeniones, que ocurren durante la maduración de la carne, inactivan el virus en tejido muscular, pero aparentemente no lo afecta apreciablemente en nódulos linfáticos, grandes coágulos sanguíneos y médula ósea. Heidelbaugh y Graves (1968) reportaron que el tratamiento térmico a 69°C durante 2,5 horas inactiva el VFA presente en nódulos linfáticos de animales infectados. Estos autores comprobaron que la adición de ácido cítrico a la sal de cura destruye la infectividad del virus. Blackwell et al. (1982) determinaron que el VFA no sobrevive en carne picada contaminada con tejido de nódulos linfáticos infectados cuando se procesa a temperaturas internas de 93.3, 96.1, ó 98.8°C usando procedimientos comerciales de proceso térmico.

La influencia del pH en la supervivencia del VFA fue estudiada inicialmente in vitro. Es así que Olitsky y Boez determinaron en 1927, que la viabilidad del virus era afectada por las variaciones de pH en medios de cultivo, siendo la óptima concentración de hidrogeniones la correspondiente a pH 7.5 - 7.6. Valores de pH superiores o inferiores presentaron influencias desfavorables. MacKenzie et al. (1975) reportaron que el VFA en soluciones buffer de fosfato es rápidamente inactivado a pH inferior a 6.4.

La estimulación eléctrica (EE) del músculo en pre-rigor, ha recibido considerable atención como un sistema de aumentar la terniza o de evitar los efectos del acortamiento por el frío (Cross, 1979). Diversos investigadores han estudiado diferentes aspectos de la utilización de este proceso (Carse, 1973; Chrystall y Hagyard, 1976; Bendall et al., 1976; Grusby et al., 1976; Davey et al., 1976; Savell et al., 1976, 1977, 1978 a,b,c, 1979; Smith et al., 1977, 1980; McCollum y Henrickson, 1977; Shaw y Walker, 1977; Chrystall, 1978; Sorinmade et al., 1978; Dutsch et al., 1980; Fabianson et al., 1979; Taylor y Marshall, 1980; Shaw y Bouton, 1980; Hagyard et al., 1980; Ruderus, 1980; Eikelenboom et al., 1981; Honikel, 1982).

Varios de estos autores han demostrado el efecto de la EE en el descenso post mortem del pH y en la aparición del rigor mortis, inclusive investigando los efectos provocados por la aplicación de voltajes variados.

En el presente trabajo se investigan las variaciones del descenso post mortem del pH en el músculo de carcasas estimuladas eléctricamente con alto y bajo voltaje. Se estudia el comportamiento del VFA en músculo de animales infectados experimentalmente, frente a diferentes concentraciones de hidrogeniones.

Materiales y Métodos.

Bovinos. Se utilizaron 9 bovinos entre 6 y 18 meses de edad, todos vírgenes de FA, los que se inocularon con VFA según dos métodos: 1) Inyección intradermolingual y 2) Instilación nasal. Se mantuvieron en galpón de aislamiento hasta el momento del sacrificio, que se realizó luego de haberse comprobado signos clínicos de enfermedad a las 24 y 72 horas, respectivamente. En el momento del sacrificio se extrajeron: sangre, nódulos linfáticos retrofaríngeo y trozos de músculo longissimus dorsi (LD). Se estudió la evolución post mortem del LD con controles seriados de temperatura y pH y se tomaron muestras para detección del VFA en músculos.

Virus. Se utilizaron virus O<sub>1</sub> Campos, 13 pasajes en bovinos y A24 Cruzeiro, proporcionados por la Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa (DILFA), descargándose una suspensión de 10<sup>5.67</sup> DL<sub>50</sub> RL/ml y 10<sup>4.6</sup> DI<sub>50</sub> bov/ml respectivamente.

Preparación de las muestras. Se colocó 10 gramos de tejido en mortero estéril y se cortó en trozos pequeños con tijera y pinza estériles. Se formó una pasta con arena estéril a la que se adicionó 15 cc de Medio Eagle de Mantenimiento (MEM). Luego se colocó en tubo de ensayo y se agregó 2 cc de cloroformo. Se agitó manualmente durante 10 minutos y se llevó durante 20 min. a centrifuga refrigerada a 9.000 rpm. Se recolectó el sobrenadante en frascos estériles que se conservaron en congeladora a -70°C hasta el momento de su inoculación en reactivos biológicos.

Detección de virus. Se utilizaron como reactivos biológicos, ratones lactantes (RL) y células BHK. Se emplearon cajas conteniendo una madre y 8 ratones de cinco días de edad que se inocularon por vía intraperitoneal con 0.05 cc de la suspensión problema. Fueron observados durante 7 días recogiendo los muertos que se procesaron para realizar Fijación de Complemento u otro pasaje en RL. Los cultivos celulares de BHK en monocapa en botellas de 4 onzas, fueron inoculados con 2 cc de la suspensión problema e incubados en estufa a 37°C, realizándose una primera lectura a las 24 horas y una segunda a las 48 horas. Los materiales positivos se sometieron a pruebas de Fijación de Complemento para tipificación del virus. Se consideraron negativos los ma-

teriales que no produjeron efecto citopático luego de tres pasajes por BHK.

Estimulación eléctrica.

**Bovinos.** Se utilizaron 2 lotes homogéneos de 20 reses vacunas cada uno, novillos raza Hereford de 380-420 kgs. Diez reses del primer lote fueron estimuladas con bajo voltaje inmediatamente después del sangrado, utilizándose un estimulador eléctrico marca Koch - Britton, 20 V, 50 Hz., 16 pulsos de 2 segundos cada uno, duración del ciclo 50 segundos, quedando las 10 reses restantes como testigos. En el segundo lote, se estimularon 10 reses con alto voltaje, utilizándose un estimulador de 600 V, 50 Hz, 16 pulsos de 2 segundos cada uno, duración del ciclo 45 segundos, inmediatamente de efectuada la evisceración, quedando las 10 reses restantes como testigos.

**Control de pH y temperatura.** Se controló pH y temperatura en biceps femoral (BF) y psoas mayor (PM) en cada una de las medias reses de los animales estimulados y no estimulados, a las 2, 4, 8, 18, 24 y 30 horas post mortem.

Se utilizó pH-metro portátil con electrodo de vidrio y termómetro portátil con sonda metálica.

**Análisis estadístico.** La información fue analizada por el test de t Student para muestras independientes para determinar el significado de las diferencias entre tratamientos (Snedecor y Cochran, 1971).

Resultado y Discusión.

En la tabla 1 se presentan los resultados de la detección del VFA en músculo LD a diferentes niveles post mortem de pH. Se observa que no se detecta virus en músculo a pH inferior a 6.0, resultando el valor mínimo en que se detectó VFA, pH 6.04.

En la tabla 2 se muestran los valores promedio de pH, desvío estandar y temperatura en músculos BF y PM estimulados con bajo voltaje y no estimulados, a distintas horas post mortem. Del análisis surge que entre las muestras estimuladas y no estimuladas existen diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) en BF hasta 12 horas post mortem y en PM hasta 8 horas post mortem.

Valores promedio de pH, desvío estandar y temperatura en músculos BF y PM estimulados con alto voltaje y no estimulados, a distintas horas post mortem, se presentan en la tabla 3. Los resultados señalan que entre las muestras estimuladas y no estimuladas existen diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) en BF y PM hasta 8 horas post mortem.

En las figuras 1, 2, 3 y 4 se muestran en forma gráfica, las curvas de descenso post mortem de pH en músculos BF y PM de carcasas estimuladas con alto y bajo voltaje y carcasas no estimuladas según valores indicados en tablas 2 y 3. Se observa que los músculos PM estimulados con alto y bajo voltaje y músculos BF estimulados con alto voltaje presentan un valor pH inferior a 6.0 a las 2 horas posteriores al sacrificio, alcanzándose estos valores en músculos BF estimulados con alto voltaje a las 4 horas.

Los resultados obtenidos en la inactivación del VFA a diferentes valores de pH confirman lo demostrado por

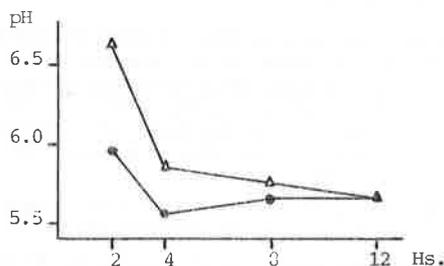


Fig.1- Descenso post mortem de pH de músculos BF estimulados con alto voltaje y no estimulados.  
● estimulados; ▲ no estimulados.

Fig.1- Post mortem pH decline of high voltage stimulated and unstimulated BF muscles.  
● stimulated; ▲ unstimulated.

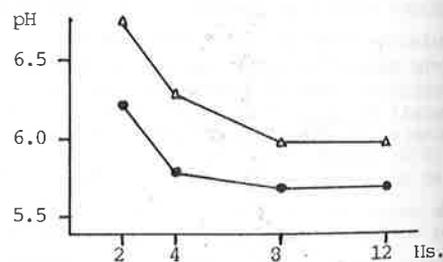


Fig.2- Descenso post mortem de Ph de músculos BF estimulados con bajo voltaje y no estimulados.  
● estimulados; ▲ no estimulados.

Fig.2- Post mortem pH decline of low voltage stimulated and unstimulated BF muscles.  
● stimulated; ▲ unstimulated.

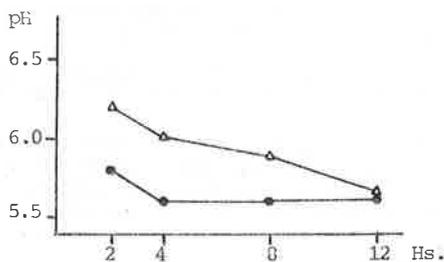


Fig.3- Descenso post mortem de pH de músculos PM estimulados con alto voltaje y no estimulados.  
● estimulados; ▲ no estimulados.

Fig.3- Post mortem pH decline of high voltage stimulated and unstimulated PM muscles.  
● stimulated; ▲ unstimulated

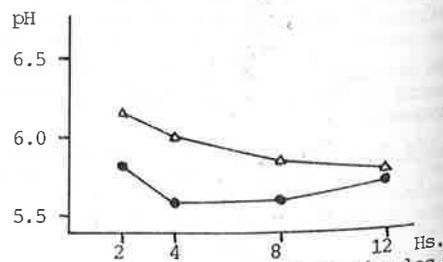


Fig.4- Descenso post mortem de pH de músculos PM estimulados con bajo voltaje y no estimulados.  
● estimulados; ▲ no estimulados.

Fig.4- Post mortem pH decline of low voltage stimulated and unstimulated PM muscles.  
● stimulated; ▲ unstimulated.

Tabla 1 - DETECCIÓN DE VFA EN MUSCULO LD A DIFERENTES NIVELES POST MORTEM DE pH.  
 Table 1 - VFA DETECTION IN LD MUSCLE AT DEFFERENT POST MORTEM pH LEVELS.

M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
6.93 (+)	7.00 (+)	6.47 (+)	6.88 (+)	6.78 (+)	6.69 (+)	6.74 (+)	6.58 (+)	6.64 (+)
6.72 (-)	6.87 (+)	6.26 (+)	6.28 (+)	6.65 (+)	6.65 (+)	6.04 (+)	6.28 (+)	6.26 (+)
6.66 (-)	6.50 (+)	6.08 (+)	5.93 (-)	6.35 (-)	6.25 (+)	5.95 (-)	6.08 (-)	5.98 (-)
6.49 (-)	6.41 (-)	5.96 (-)	5.91 (-)	6.04 (-)	5.80 (-)	5.84 (-)	5.95 (-)	5.72 (-)
6.43 (-)	6.40 (-)	5.32 (-)	5.76 (-)	5.63 (-)	5.45 (-)	5.80 (-)	5.85 (-)	5.62 (-)

M1, M2, ..., M9: Muestras de músculo LD de bovinos experimentalmente infectados. Positivo (+) o Negativo (-) indican presencia o ausencia de VFA. - M1, M2, ..., M9: Samples of LD muscle from artificially infected bovines. Positive (+) or negative (-) mean VFA presence or absence.

Tabla 2 - VALOR PROMEDIO DE pH, SU DESVIO ESTANDAR Y TEMPERATURA DE DOS LOTES DE DIEZ BOVINOS CADA UNO, POR EL MUSCULO ESTIMULADO CON BAJO VOLTAJE Y NO ESTIMULADO SEGUN HORAS POST MORTEM.  
 Table 2 - pH MEAN VALUES, STANDARD DEVIATION AND TEMPERATURE IN TWO GROUPS OF TEN BOVINOS EACH, FOR LOW VOLTAGE STIMULATED AND UNSTIMULATED MUSCLE ACCORDING TO HOURS POST MORTEM.

Hs. post mortem	Nivel de probabil.	BICEPS FEMORAL				PSOAS MAJOR				
		Estimulado		No estimulado		Estimulado		No estimulado		
		pH	T (°C)	pH	T(°C)	pH	T(°C)	pH	T(°C)	
2	*	6.22±.10	35.5	6.78±.22	35.2	*	5.83±.10	34.2	6.14±.16	35.6
4	*	5.77±.14	31.4	6.27±.19	31.3	*	5.58±.11	26.5	6.00±.28	26.2
8	*	5.67±.12	28.5	5.94±.21	27.6	*	5.59±.09	16.0	5.85±.20	16.8
12	*	5.69±.18	18.5	5.94±.18	20.0	N.S.	5.72±.15	11.0	5.77±.09	11.3
18	N.S.	5.57±.13	16.2	5.68±.10	15.3	N.S.	5.61±.30	6.3	5.69±.11	6.3
24	-	(a)	10.4	(a)	9.5	-	(a)	3.9	(a)	4.4
30	N.S.	5.72±.13	7.9	6.42±.09	8.5	N.S.	6.39±.04	3.0	6.52±.05	4.0

\* Significativo (P<0.01); N.S. No significativo (P>0.01); (a) Información no disponible.  
 \* Significant (P<0.01); N.S. Non significant (P>0.01); (a) Data non available.

Tabla 3 - VALOR PROMEDIO DE pH, SU DESVIO ESTANDAR Y TEMPERATURA DE DOS LOTES DE DIEZ BOVINOS CADA UNO, POR EL MUSCULO ESTIMULADO CON ALTO VOLTAJE Y NO ESTIMULADO SEGUN HORAS POST MORTEM.  
 Table 3 - pH MEAN VALUES, STANDARD DEVIATION AND TEMPERATURE IN TWO GROUPS OF TEN BOVINOS EACH, FOR HIGH VOLTAGE STIMULATED AND UNSTIMULATED MUSCLE ACCORDING TO HOURS POST MORTEM.

Hs. post mortem	Nivel de probabil.	BICEPS FEMORAL				PSOAS MAJOR				
		Estimulado		No estimulado		Estimulado		No estimulado		
		pH	T (°C)	pH	T(°C)	pH	T(°C)	pH	T(°C)	
2	*	5.93±.15	37.1	6.63±.31	37.7	*	5.79±.07	35.2	6.20±.21	35.0
4	*	5.53±.09	32.9	5.85±.15	29.7	*	5.59±.05	28.8	6.02±.15	25.6
8	*	5.63±.07	28.8	5.76±.13	28.7	*	5.59±.09	21.1	5.82±.13	17.9
12	N.S.	5.66±.09	19.6	5.65±.15	16.7	N.S.	5.68±.07	12.6	5.62±.08	10.7
18	N.S.	5.71±.16	12.3	5.57±.15	13.2	N.S.	5.72±.08	4.6	5.59±.10	4.2
24	N.S.	5.79±.15	8.4	5.74±.09	10.3	N.S.	5.82±.11	4.5	5.77±.09	4.7
30	N.S.	5.73±.17	7.5	5.73±.18	9.2	N.S.	5.70±.07	3.0	5.69±.08	3.5

\* Significativo ( P<0.01 ); N.S. No significativo ( P>0.01 ).  
 \* Significant ( P<0.01 ); N.S. Non significant ( P>0.01 ).

otros autores ( Henderson y Brooksby, 1948; MacKenzie et al., 1975 ) referente a la no supervivencia del mismo a valores de pH inferiores a 6.0.

Por otra parte se observa que con la utilización de la EE, con diferentes niveles de voltaje, se alcanza, en el músculo estimulado, valores de pH inferiores a 6.0 antes de las 4 horas posteriores al sacrificio.

Los resultados permiten considerar la utilización de la EE como método de alternativa en la maduración de la carne, por la obtención acelerada de valores de pH muscular que aseguren la inactivación del VFA en carne.

#### Referencias.

- BENDALL, J.R., KETTERIDGE, C.C. y GEORGE, A.R. 1976. J. Sci. Fd. Agric. 27:1123.  
 BLACKWELL, J.H., RICKENSRUD, D., MCKERCHER, P.D. y Mc VICAR, J.W. 1982. J. Food Sci. 47:388.  
 CARSE, W.A. 1973. J. Food Techn. 8:163.  
 CRYSTAL, B.B. 1978 Proc. 24th European Meeting of Meat Research Workers, Kulmbach.

- CHRYSAL, B.B. y HAGYARD, C.J. 1975. N.Z.J. of Agri. Res. June: 7.
- CHRYSAL, B.B. y HAGYARD, C.J. 1976. N.Z.J. of Agri. Res. 19:7.
- COTTRAL, G.E., COX, B.F. y BALDWIN, D.E. 1960 Am. J. Vet. Res. 21:283.
- CROSS, H.R. 1979. J. Food. Sci. 44:509 .
- DAVEY, C.L., GILBERT, K.V. y CARSE, W.A. 1976. N.Z.J. of Agri. Res. 19:13.
- DUTSON, T.R., SMITH, G.C. y CARPENTER, Z.L. 1980. J. Food Sci. 45:1097.
- EIKELLENBOOM, G., SMULDERS, F.J.M. y RUDERUS, H. 1981. Proc. 27th European Meeting of Meat Research Workers, Vienna.
- EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY. 1972. Council Directive 72/462/EEC. Off. J. Eur. Comm. L 302:28.
- EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY. 1978. Council Directive 78/695/EEC. Off. J. Eur. Comm. L 234:37.
- FABIANSOON, S., Jonsson, G. y RUDERUS, H. 1979. Proc. 25th European Meeting of Meat Research Workers, Budapest.
- GRUSBY, A.H., WEST, R.L., CARPENTER, J.W. y PALMER, A.Z. 1976. J. Anim. Sci. 42:253.
- HAGYARD, C.J., HAND, R.J. y GILBERT, K.V. 1980 N.Z.J. Agri. Res. 23:27.
- HEIDELBAUGH, N.D. y GRAVES, J.H. 1968. Fd. Techn. 22:120.
- HENDERSON, W.M. y BROOKSBY, J.B. 1948. J. Hyg. 46:394.
- HONIKEL, K.O. 1982. Fleischwirtschaft, español 1:18.
- McCOLLUM, P.D. y HENRICKSON, R.L. 1977. J. Food Qual. 1.
- MACKENZIE, J.S., SLADE, W.R., LAKE, J., PRISTON, R.A.J., BISBY, J., LAING, S. y NEWMAN, J. 1975. J. Gen. Virol. 27:61.
- OLITSKY, P.K. y BOEZ, L. 1927. J. of Exp. Med. 45:833.
- RUDERUS, H. 1980. Proc. 26th European Meeting of Meat Research Workers, Colorado Springs.
- SAVELL, J.W., SMITH, G.C., DUTSON, T.R., CARPENTER, Z.L. y SUTER, D.A. 1976. J. Anim. Sci. 43:246.
- SAVELL, J.W., SMITH, G.C., DUTSON, T.R., CARPENTER, Z.L. y SUTER, D.A. 1977. J. Food Sci. 42:702.
- SAVELL, J.W., DUTSON, T.R., SMITH, G.C. y CARPENTER, Z.L. 1978 a. J. Food Sci. 43:1606.
- SAVELL, J.W., SMITH, G.C. y CARPENTER, Z.L. 1978 b. J. Anim. Sci. 46:1221.
- SAVELL, J.W., SMITH, G.C. y CARPENTER, Z.L. 1978 c. J. Food Sci. 43:1666.
- SAVELL, J.W., SMITH, G.C., CARPENTER, Z.L. y PARRISH, F.C. 1979. J. Food Sci. 44:911.
- SHAW, F.D. y WALKER, D.J. 1977. J. Food Sci. 42:1140 .
- SHAW, F.D. y BOUTON, P.E. 1980. Fd. Technol. in Australia, 32:530.
- SMITH, G.C., DUTSON, T.R. y CARPENTER, Z.L. y HOSTETLER, R.L. 1977. Proc. Meat Ind. Res. Conf. 29:147.
- SMITH, G.C., SAVELL, J.W., DUTSON, T.R., HOSTETLER, R.L., TERRELL, R.N., MURPHEY, C.E. y CARPENTER, Z.L. 1980. Proc. 25th European Meeting of Meat Research Workers, Colorado Springs.
- SNEDECOR, G.W. y COCHRAN, W.G. 1971. Métodos Estadísticos, 6ta. edición C.E.C. S.A., México.
- SORINMADE, S.O., CROSS, H.R. y ONO, K. 1978. Proc. 24th European Meeting of Meat Research Workers, Kulmbach.
- TAYLOR, D.G. y MARSHALL, A.R. 1980. J. Food Sci. 45:144.

#### Agradecimientos.

Los autores agradecen a las autoridades y personal de la Dirección de Lucha contra la Fiebre Aftosa (DILFA); frigoríficos Carrasco y San Jacinto, y al Dr. Andrés Gil por su colaboración en el análisis estadístico del trabajo.