



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTITLÁN

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA SOBRE EL pH
Y TEMPERATURA DEL MÚSCULO *BÍCEPS FEMORIS* EN CANALES DE CONEJOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

NORMA CECILIA MIGUEL SALDIVAR

ASESORA: M. en C. MARÍA DEL CARMEN BARRÓN GARCÍA

COASESORES: M. en P. JORGE LUIS RICO PÉREZ

M. en P. JUAN CARLOS RODRÍGUEZ HUERTA



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos
 comunicar a usted que revisamos la Tesis :

Evaluación del efecto de la estimulación eléctrica sobre el pH y temperatura del músculo

Biceps femoris en canales de conejos.

que presenta la pasante: Norma Cecilia Miguel Saldivar

con número de cuenta: 095128533 para obtener el título de :

Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en
 el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 8 de septiembre de 2008

PRESIDENTE M.C. María Magdalena Zamora Fonseca

VOCAL Dr. Miguel Angel Comejo Cortés

SECRETARIO M.C. María del Carmen Barrón García

PRIMER SUPLENTE Q.F.B. Juana Alicia Alquicira Camacho

SEGUNDO SUPLENTE M.V.Z. Juan Raúl Aguilar Tovar

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios que siempre ha estado a mi lado en todo momento, por el amor y fuerza que me ha brindado. Gracias por tu protección.

A la FES Cuautitlán, por mi formación académica.

A todo el personal que labora en el Taller de Carnes de la F.E.S. Cuautitlán UNAM y colaboró con éste trabajo. Mil Gracias.

Al personal del Módulo de Cunicultura del Centro de Enseñanza Agropecuaria de la F.E.S Cuautitlán UNAM. Gracias por su apoyo.

A mi asesora de tesis y amiga: Dra. Mary Barrón. Gracias Mary, te quiero mucho y agradezco la gran huella que dejas en mí. Gracias por creer en mí.

A mis coasesores, el Dr. Jorge Rico e Ing. Juan Carlos Rodríguez. Mil gracias por impulsarme y hacer posible éste gran logro.

DEDICATORIAS

A *Leonardo*, mi hijo: Eres un ser humano genial, te amo. Éste logro en parte también es tuyo, tu me impulsaste más que nadie a concluir mis estudios. Espero siempre estés orgulloso de mí como hasta ahora y logremos todos nuestros sueños. Te amo infinitamente Leo.

Norma mi madre: gracias a tu ejemplo, apoyo, consejos y paciencia pude hacer realidad mi sueño de ser Médica. Te quiero muchísimo.

Pedro mi padre: aunque en la distancia, siempre me brindaste palabras de aliento y confianza. Te quiero mucho papá.

A mis extraordinarios hermanos:

Horacio y Daniel: por su ejemplo de tenacidad, trabajo, responsabilidad, etc. Mil gracias por todos los momentos compartidos y por su apoyo incondicional. Los amo profundamente.

A mis tías, tíos, primos, abuelos, cuñadas y sobrinas gracias por su apoyo, cariño y consejos. Los amo.

A *mis adoradas mascotas*. Les dedico amorosamente este trabajo.

A mi querida e inigualable amiga *Lula*. Eres parte importantísima de este tan anhelado sueño. Gracias por darme la dicha de ser parte de tu vida. Te amo millones amiguita.

A *Lau*: te quiero mucho amigui. Gracias por ser parte de la familia y por esa hermosa niñita que trajiste al mundo junto con mi clon. Los amo a los tres.

A *Moni*. Gracias por ser parte de la familia y por el clonsito de Dany. Te quiero.

A *Pedro, mi amado amigo*: te agradezco el cariño y confianza que me demuestras. Te amo amigo, eres un ser especial.

A todos mis amigos de la Universidad que de una u otra forma influyeron en mi vida. Gracias por esos buenos momentos.

A mi amigo y gran profesor *Juan Carlos del Río García*: gracias por todas tus enseñanzas, tus consejos y por considerarme tu amiga, es un gran honor. Te guardaré un profundo cariño, respeto y admiración por siempre. Te quiero mucho *Juan*.

N. Cecilia Miguel Saldivar.

ÍNDICE

	Págs.
ÍNDICE DE FIGURAS.....	1
ÍNDICE DE CUADROS.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	5
REVISIÓN DE LITERATURATURA	
• Conversión del músculo a carne.....	6
• Fenómenos bioquímicos del <i>rigor mortis</i>	11
• Relación del pH con la calidad de la carne.....	13
• Métodos de insensibilización más utilizados y su influencia en la modificación del pH de las canales y calidad de las mismas.....	19
• Efecto de la insensibilización eléctrica.	21
• Efecto de la estimulación eléctrica.....	24
• Enfriamiento de las canales <i>post mortem</i>	30
MATERIALES Y MÉTODOS.	
Descripción del área de estudio.....	32
Manejo general de los animales.....	32
Análisis estadístico de la información.....	38
RESULTADOS.....	39
DISCUSIÓN.....	42
CONCLUSIONES.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	47

RESUMEN

Se realizó un experimento con conejos de la raza Nueva Zelanda con la finalidad de evaluar el efecto de la insensibilización eléctrica y la estimulación eléctrica sobre el pH y temperatura del músculo *Bíceps femoris* (BF) en canal. Se sacrificaron 80 animales y se asignaron al azar en cuatro tratamientos. En el tratamiento I (Testigo) fueron insensibilizados por desnucamiento, a los del tratamiento II se les aplicó este mismo método de insensibilización y sus canales fueron estimuladas eléctricamente inmediatamente después del sacrificio. A los animales del tratamiento III se les aplicó corriente eléctrica como medio de insensibilización y los conejos del tratamiento IV fueron insensibilizados con corriente eléctrica y sus canales se estimularon eléctricamente inmediatamente después del sacrificio.

Los datos obtenidos se analizaron empleando un modelo estadístico que incluyó el efecto del tratamiento, sexo y su interacción; utilizando el siguiente modelo: $Y_{ijk} = \mu + T_i + S_j + (TS)_{ij} + E_{ijk}$.

Los valores de pH_{0h}, pH_{2h} y pH_{4h} post mortem fueron menores ($P < 0.05$) en el m. *Bíceps femoris* en los tratamientos II, III y IV. El tratamiento II, en el cual se utilizó estimulación eléctrica *post mortem* y el tratamiento III con insensibilización eléctrica como método de aturdimiento demostraron una caída del pH final más notoria, dando como resultado en este experimento valores iguales a pH 24 horas 5.99.

La temperatura del m. *Bíceps femoris* fue alta ($P < 0.05$) en el tratamiento II hasta las 24h (Temp_{24h}), siendo este tratamiento el cual tuvo la temperatura final más elevada de entre los 4 tratamientos. No existió efecto ($P > 0.05$) del sexo, ni de la interacción entre sexo y tratamiento. Se concluye que la aplicación temprana y directa de corriente eléctrica sobre la

canal reduce el pH inicial y consecuentemente puede mejorar la ternura de la carne en conejos. Por otra parte, la insensibilización y estimulación eléctrica de las canales puede acelerar el descenso del pH inicial muscular. La insensibilización eléctrica y/o la estimulación eléctrica no influyeron sobre el pH final de las canales. Todas las canales fueron sujetas a idénticas condiciones de enfriamiento, en cambio, la temperatura final de las canales se ve ligeramente elevada en los tratamientos II y IV por el efecto de la insensibilización y estimulación eléctrica.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Págs.
1. Resumen de la vía de la glucólisis anaerobia.....	8
2. Flujo general de los cambios <i>post mortem</i>	12
3. Consecuencias de la acidificación del músculo sobre el aspecto y la retención de agua en la carne.....	15
4. Conejos de la raza Nueva Zelanda de 70 días de edad, alojados y transportados en jaulas metálicas.....	33
5. El desnucamiento fue empleado para insensibilizar a los conejos asignados al tratamiento I.....	33
6. Canales estimuladas eléctricamente inmediatamente después del sacrificio.....	34
7. En la insensibilización eléctrica las pinzas de colocaron en la región auricular y anal.....	34
8. Medición del pH en el músculo <i>Bíceps femoris</i>	35
9. Medición de la temperatura en el músculo <i>Bíceps femoris</i>	36
10. Las canales fueron colocadas en charolas después de las mediciones para su refrigeración.....	36
11. Diagrama de flujo de la metodología experimental.....	37
12. Cinética del pH del <i>m. Bíceps femoris</i> a diferentes tiempos.....	40
13. Cinética de la temperatura del <i>m. Bíceps femoris</i> a diferentes tiempos.....	40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Págs.
1. Propiedades funcionales de las proteinasas “in vitro”.....	10
2. Principales proteinasas del músculo y sus características.....	27
3. Medias y desviaciones estándar del pH del músculo <i>Biceps femoris</i> por efecto de la estimulación eléctrica.....	39
4. Medias y desviaciones estándar de la temperatura del músculo <i>Biceps femoris</i> por efecto de la estimulación eléctrica.....	39
5. Valores mínimos y máximos de pH y temperatura para los 4 tratamientos registrados a diferentes tiempos <i>post mortem</i>	41
6. Comportamiento de los 4 tratamientos en el pH y temperatura registrados a diferentes tiempos <i>post mortem</i>	41

INTRODUCCIÓN

El fomento de la producción de carne de conejo, la cual es una especie de alta velocidad reproductiva, sería una excelente alternativa para que la población en general y marginada tuvieran acceso a la proteína que ofrece esta carne, contribuyendo así a la disminución de la desnutrición tan marcada en nuestro país (Roca, 1987; Segundo, 2003).

La calidad de la carne es el resultado de cambios *post mortem* caracterizados por dos eventos bioquímicos: el inicio del *rigor mortis* y el proceso de maduración. El pH del músculo es un estimador del tipo de fibra muscular y del equilibrio entre las vías metabólicas y el nivel de reserva energética en el músculo, además de permitir valorar el tratamiento al que ha sido sometido el animal antes del sacrificio. Asimismo, permite predecir ciertas características cualitativas de la carne, ya que afecta la estructura de las proteínas, capacidad de retención de agua (CRA), textura y el olor (Hulot y Ouhayoun, 1999). En el caso del conejo, el pH se mide en el músculo *Longissimus dorsi* y en el *Bíceps femoris* (Piles, *et al.*, 2000).

La evolución del pH de la carne de conejo se inicia a partir del pH del músculo. En conejos vivos es muy cercano a 7-7.5 (Ramírez, 2004).

Existen diversos factores que están relacionados con la variación del pH muscular tales como el genotipo, sexo, edad, peso, alimento, consideraciones tecnológicas siendo dentro de éstas los métodos de insensibilización y estimulación eléctrica *post mortem*, condiciones previas a la matanza y sistemas de enfriamiento los importantes (Dalle Zotte, 2002).

Savell, *et al.*, (1981), concluyeron que la estimulación eléctrica acelera la terneza *post mortem*. Este método acelera el *rigor mortis*, permitiendo un enfriamiento rápido sin endurecimiento de la carne. La estimulación eléctrica tras el sacrificio acelera los procesos normales *post mortem* por medio de intensas contracciones musculares, las cuales consumen el glucógeno y el creatín fosfato, promoviendo la caída del pH y un desarrollo temprano del *rigor mortis* (Warris, 2003).

Cualquier método de aturdimiento o insensibilización que emplee un extremo estrés y violencia favorecerá la liberación de catecolaminas, asociadas a la depleción de las reservas de energía y la reducción de la acidificación (Carse, 1973).

En México el método de insensibilización eléctrica se práctica en especies como aves, cerdos, bovinos y son pocos los lugares que lo emplean en conejos. La aplicación de corriente eléctrica *post mortem* ha sido empleada como un método para mejorar la terneza de la carne en bovinos, borregos, cabras y cerdos, desconociéndose el efecto que tiene la estimulación eléctrica sobre el pH de la carne de conejo (Carse, 1973).

OBJETIVOS

Objetivo general:

- Determinar el efecto de la estimulación eléctrica sobre el pH y temperatura del músculo *Biceps femoris* en canales de conejos Nueva Zelanda, considerándolo como un factor importante sobre la calidad de la carne.

Objetivos particulares:

- Establecer la influencia de la insensibilización eléctrica sobre la variación del pH y temperatura del músculo *Biceps femoris* en canales de conejos.
- Determinar el efecto de la aplicación de la estimulación eléctrica inmediatamente después del sacrificio de las canales sobre la variación del pH y temperatura del músculo *Biceps femoris*.
- Analizar la cinética de variación del pH y temperatura muscular dentro de las primeras 24 horas *post mortem*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Conversión del músculo a carne

La carne es el alimento procedente de la musculatura de los animales. La conversión del músculo en carne es el fundamento del proceso que se realiza desde el animal vivo hasta su transformación en alimento.

Lo que se consume como carne depende fundamentalmente de la naturaleza estructural y química de los músculos en su estado *post mortem*, y difiere de dichos músculos en una serie de cambios bioquímicos y biofísicos que se inician al morir el animal (López y Casp, 2004). Cuando el animal muere, ocurre la liberación de sus propias enzimas; así pues, las proteinasas, comienzan la digestión de las proteínas de la carne, fragmentándola, lo que se traduce en su ablandamiento lento (Carballo, *et al.*, 2001).

Cuando se sacrifica al animal, la interrupción de la circulación de la sangre causada por el desangrado, provoca el comienzo de una serie compleja de cambios en el tejido muscular. El cambio más inmediato al desangrado es la interrupción del aporte de oxígeno sanguíneo a los músculos, con la consiguiente caída del potencial de óxido-reducción (López y Casp, 2004, Warris, 2003).

Después del sacrificio, cuando la circulación sanguínea se detiene, la capacidad amortiguadora es en gran medida reducida, y el metabolismo anaeróbico de los carbohidratos proporciona el mecanismo homeostático para la resíntesis del ATP. Esto resulta en la acidificación de los músculos, los cuales dependen del contenido de

carbohidratos y la capacidad amortiguadora, para que el valor del pH sea de 5.5 o menor (Pösö y Puolanne, 2005).

En el músculo, la principal fuente de glucosa para la glucólisis es la glucosa sanguínea (proveniente de la dieta o glucógeno hepático) y el glucógeno muscular almacenado. Durante el estrés, mecanismos hormonales hacen una importante movilización y utilización de carbohidratos. En el músculo, las catecolaminas, liberadas por neuronas simpáticas y medula adrenal, inducen la rápida degradación del glucógeno a través de la activación del glucógeno fosforilasa y la inhibición de la síntesis de glucosa (Pösö y Puolanne, 2005).

Ante la falta de oxígeno y fosfocreatina se inicia un proceso anaerobio, con producción de ácido láctico, lo cual baja el pH alcalino inicial de 7-7.5 hasta llegar aproximadamente a 5.5, donde cesa la actividad glucolítica, porque pH inferiores inactivan las enzimas que participan en ello, y además las proteínas se acercan a su punto isoeléctrico, agrupándose porque no existen cargas que provoquen repulsión, por tanto disminuye la CRA, de tal forma que, a un pH ácido, se activan las catepsinas, actuando sobre las proteínas musculares, provocando así el ablandamiento (Carballo, *et al.*, 2001).

En consecuencia, el glucógeno, se convierte en ácido láctico en condiciones anaeróbicas por glicólisis *post mortem*. Esta glucólisis sigue la ruta de Embden-Meyerhof (Figura 1). (López y Casp, 2004, Warris, 2003).

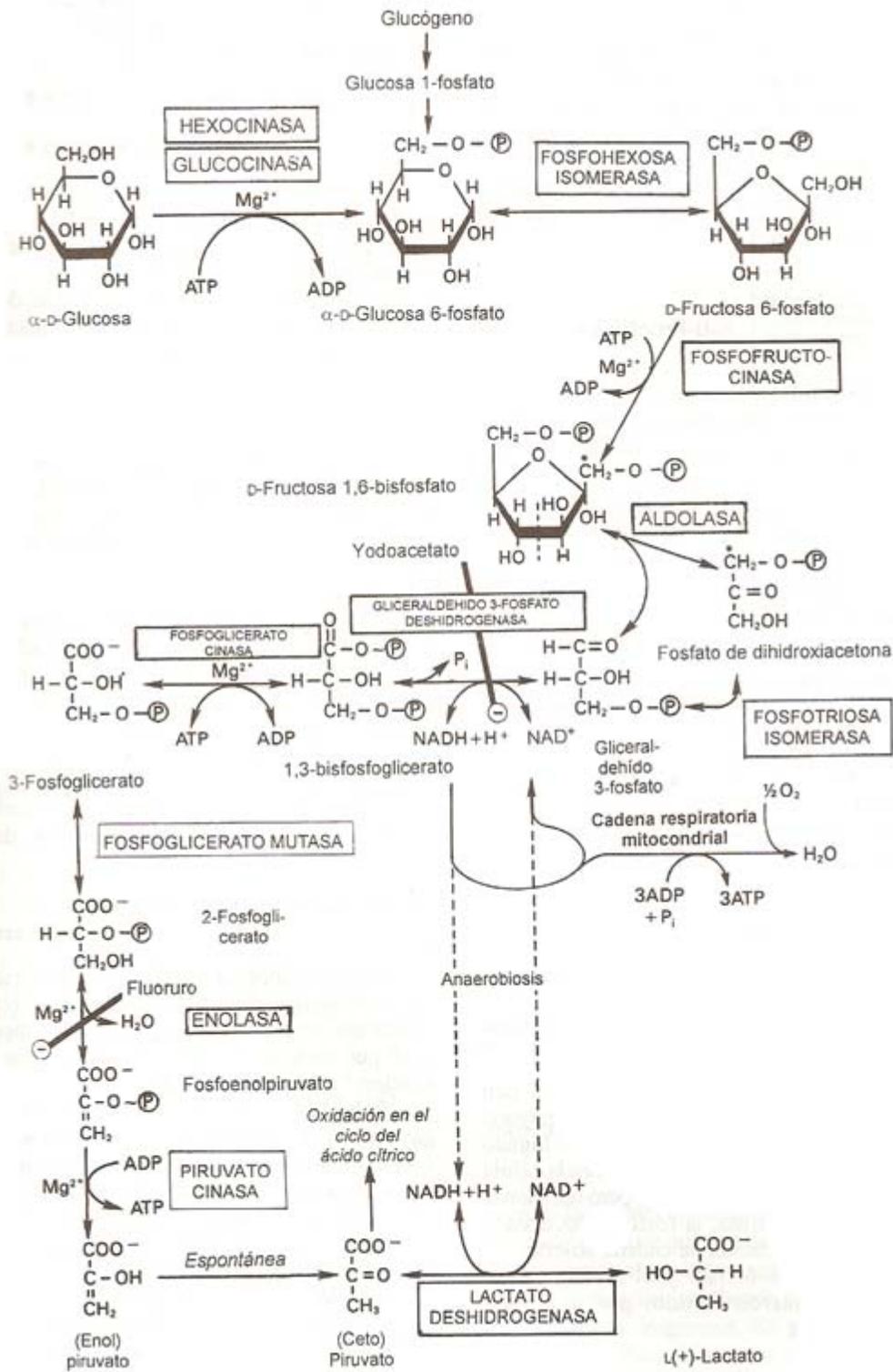


Figura 1. Resumen de la glucólisis anaeróbica. Fuente: Murray, *et al.*, 1997.

En los cambios estructurales y bioquímicos que constituyen la transformación de músculo a carne se distinguen dos fases:

a) Se desarrolla el *rigor mortis* y el músculo tiende a una dureza máxima. Esta dureza se da porque el pH aún no ha descendido al punto ácido, donde se activan las enzimas proteolíticas que confieren el ablandamiento. Este proceso es paralelo a la disminución del ATP, disminución del pH hasta cerca de 5.5 y la liberación lenta de Ca^{++} de las reservas intracelulares.

b) El almacenamiento *post mortem* o acondicionamiento de la carne ha sido considerado como esencial para la obtención de carne tierna. Durante el proceso de maduración las proteínas y los lípidos se degradan sufriendo alteraciones que darán como resultado compuestos precursores del aroma y el sabor final de la carne (Campo, 1999).

El proceso de maduración de la carne involucra varios procesos bioquímicos, entre ellos el rompimiento de proteínas miofibrilares por proteinasas endógenas (Cuadro 1), primeramente en la unión de las bandas musculares A e I, así como la fragmentación de las líneas Z, también asociada con la pérdida de Troponina-T. Con la liberación de proteinasas, comienza la degradación miofibrilar, produciendo posteriormente el ablandamiento lento. Las proteasas calcio-dependientes (calpains) parecen ser las más importantes, aunque las catepsinas (enzimas lisosomales) también intervienen (Ouali, 1990, Koohmaraie, 1994).

Las enzimas lisosómicas se activan en pH ácidos, degradan la membrana lisosómica y pasan al líquido sarcoplásmico, degradando las proteínas musculares. Estas enzimas son las catepsinas BH, L y D de los lisosomas, la tripsina y las calpaínas.

Las calpaínas afectan seriamente a las líneas Z y M, degradan al disco Z, así como a la troponina y la desmina (que se encuentra en la línea Z), no influyen sobre la actina ni a la miosina (Carballo, *et al.*, 2001). (Cuadro 1).

Enzimas	Punto isoeléctrico	pH	Sustratos
Catepsina	5-5.2	4-6	Actina Miosina Colágeno
Catepsina D	5.5-6.5	3-5 (actúa a pH + ácidos)	Actina Miosina Troponina T Troponina I Línea Z
Catepsina H	7.1	5.5-6.5 (a pH aprox. neutros)	Actina Miosina
Catepsina L	5.8-6.1	4-6.5	Actina Miosina α Actina Troponina T Troponina I Colágeno
Calpaínas I y II		6.5-8	Desmina Troponina T Troponina I Tropomiosina Conectina

Fuente: Carballo, *et al.*, 2001.

Cuadro 1. Propiedades funcionales de las proteinasas “in vitro”

La proteinasas tienen un efecto potencial en la remoción de miofilamentos y la generación de aminoácidos libres; siendo estos los tres sistemas proteolíticos enzimáticos esenciales:

calpainas, proteosomas y lisosomas. Las enzimas lisosomales y/o el complejo proteosomas pueden degradar la proteína miofibrilar individualmente en aminoácidos.

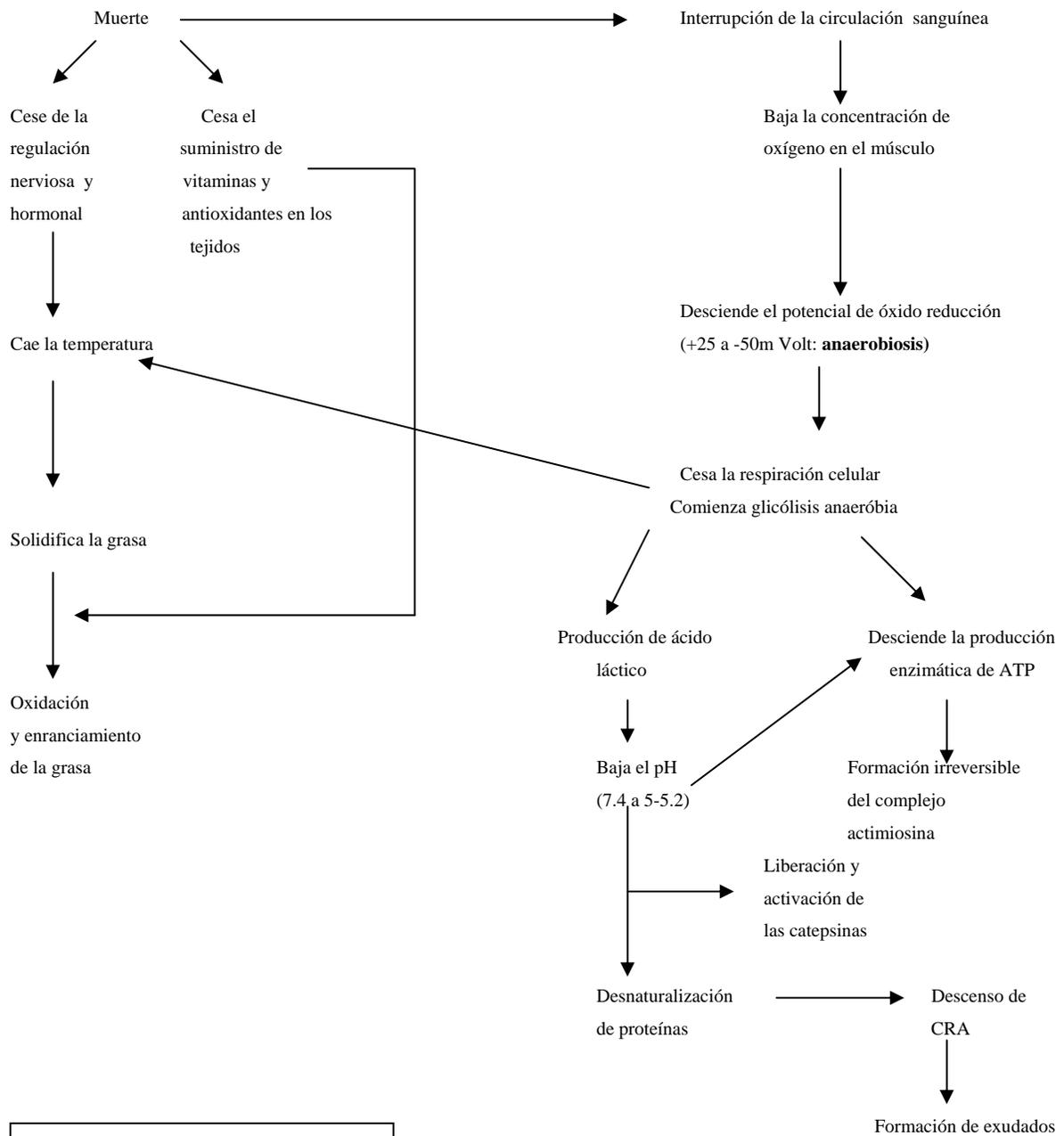
El sistema proteolítico de las calpainas consiste en la ubicación del sistema (μ -calpaina, m-calpaina y calpastatina) en el tejido calpaina específico. Evidencias concurrentes sugieren que la proteólisis de la proteína miofibrilar es la causa de la ternura de la carne. (Koohmaraie, *et al.*, 2002).

Fenómenos bioquímicos del rigor mortis

El tiempo del comienzo del *rigor mortis* estará obviamente ligado a los factores que afectan tanto el nivel de glucógeno y de creatín fosfato en el momento de la muerte como a la velocidad del metabolismo muscular *post mortem*. El *rigor mortis* tarda diferentes tiempos en instaurarse en las distintas especies siendo de 4 horas en pollos y hasta 24 en bovinos.

A medida que el *rigor mortis* se acerca, el glucógeno se transforma en ácido láctico (por glicólisis anaerobia) Figura 2, que baja el pH hasta el punto isoeléctrico de las proteínas, lo que implica que la CRA sea mínima. Al cesar el aporte de ATP se forma el complejo de actmiosina, disminuyendo el espacio libre intracelular (Carballo, *et al.*, 2001).

Cuando esto sucede, las moléculas de actina y miosina de los filamentos finos y gruesos se unen irreversiblemente para formar actmiosina y se pierde el carácter extensible del músculo. Cada fibra muscular entra en *rigor mortis* muy rápidamente una vez que el ATP se ha agotado, pero la variación entre las fibras individuales conduce a un desarrollo más gradual de la rigidez en el músculo entero, cuando progresivamente más y más fibras van siendo inextensibles.



Fuente: (Carballo, *et al.*, 2001).

Figura 2. Flujo general *post mortem*: la disminución de la temperatura solidifica las grasas y permite el enranciamiento de estas, por otro lado, al disminuir el oxígeno se produce la glucólisis anaerobia y el pH disminuye por producción de ácido láctico.

Por tanto, el *rigor mortis* ocurre de una manera más rápida en animales que han realizado ejercicio intenso en el momento de la muerte, en animales sometidos a estrés durante tiempo prolongado antes del sacrificio, agotando así sus reservas de glucógeno.

Es posible encontrar *rigor mortis* en un músculo en el que el pH es todavía alto si el animal ha sufrido agotamiento previo al sacrificio, denominado *rigor alcalino* (Warris, 2003).

Es interesante destacar que el comienzo del *rigor mortis* está determinado solamente por la disponibilidad de ATP, no por el valor del pH del músculo.

El tipo de músculo tiene una considerable importancia en la velocidad de la glicólisis *post mortem*. Los músculos “rojos”, adaptados para desarrollar actividades lentas y prolongadas tienen un nivel mucho más alto de enzimas respiratorias que los músculos “blancos”, que estando adaptados a una actividad rápida e intermitente, tienen los prerequisites para un eficiente metabolismo anaerobio. Esto implica elevados niveles de ATP-asa, un elevado contenido de creatin fosfato y glucógeno y un retículo sarcoplásmico muy desarrollado para controlar la actividad glucolítica por medio de la rápida liberación y recuperación de iones Ca^{2+} . Por estas razones, la velocidad de la glicólisis *post mortem* puede ser significativamente mayor en los músculos “blancos” que en los “rojos” (López y Casp, 2004).

Relación del pH con la calidad de la carne

Tanto la velocidad como la cuantía del descenso del pH *post mortem* están influidas por factores intrínsecos tales como la especie, edad, tipo de músculo y fibra muscular, así como su localización y la variabilidad entre los animales y por factores extrínsecos como la administración de drogas antes del sacrificio y la temperatura ambiental. En un

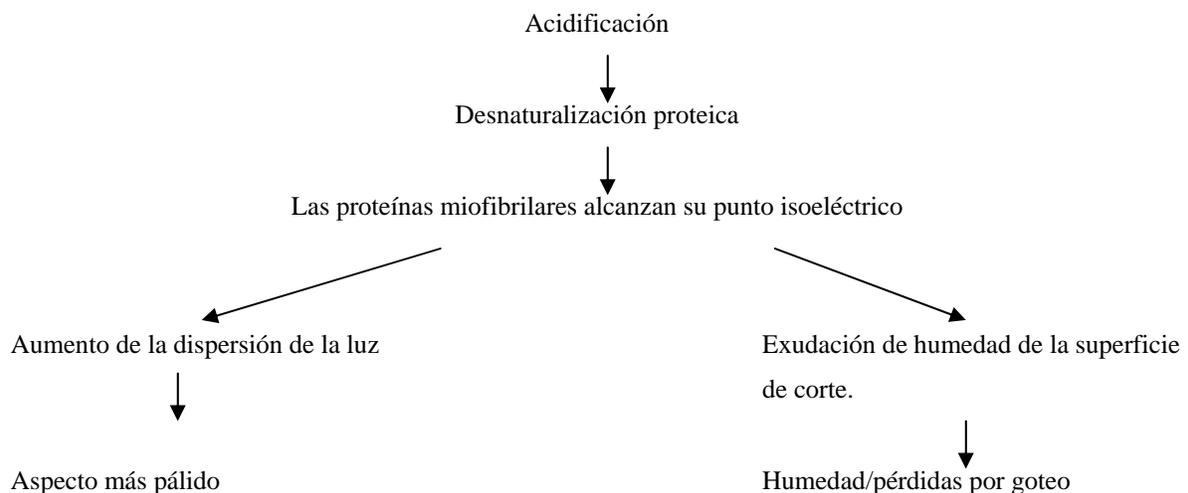
experimento se estudió que el tipo y cantidad de alimentación son factores que influyen enormemente en el descenso del pH muscular, al igual que la edad al sacrificio, método de sacrificio y el empleo de la estimulación eléctrica en las canales (Dalle Zotte, *et al.*, 2005).

Los eventos tempranos *post mortem*, incluyendo la proporción y el grado de disminución del pH, la proteólisis, así como la oxidación proteica son factores importantes que influyen sobre la capacidad de la carne para retener agua (CRA). Mucha del agua retenida en el músculo se encuentra atrapada en estructuras celulares, incluyendo espacios intra y extramiofibrilares; por consiguiente, la clave de los cambios de la arquitectura intracelular están influenciadas por la capacidad de las células musculares para la retención de agua. Conforme va progresando el *rigor mortis*, el espacio del agua para estar retenido en las miofibrillas se reduce y los fluidos pueden ser forzados a los espacios extramiofibrilares donde más fácilmente hay pérdidas por goteo. El límite de degradación de las proteínas citoesqueléticas tal vez resulte en un incremento en el encogimiento absoluto de las células musculares, que finalmente se traduce en pérdidas por goteo. Recientemente se ha evidenciado que la degradación de las proteínas citoesqueléticas esta dada por las calpainas, ocupando un papel determinante en la capacidad de retención de agua (Huff-Lonergan, 2005).

La CRA, es una propiedad de gran importancia en la calidad de la carne ya que sufre cambios antes, después y durante la cocción. Después del sacrificio, la CRA de la carne se ve afectada por factores como: la caída del pH *post mortem*, pérdida de ATP, instauración del *rigor mortis* y los cambios en la estructura miofibrilar asociados en parte a la actividad proteolítica (Koohmaraie, 1994, Roncalés, *et al.*, 1995). Una rápida velocidad de descenso

del pH incrementará la tendencia de la actimiosina a contraerse a medida que se forma, lo que expulsará al exterior el líquido que había comenzado a disociarse de las proteínas (López y Casp, 2004).

Por tanto, las propiedades físicas más importantes de la carne (color, firmeza, jugosidad y textura de la carne cocida), están estrechamente relacionadas con la CRA. Cuando los tejidos tienen poca capacidad de retención de agua durante el almacenamiento, las pérdidas por goteo pueden ser grandes, y al mismo tiempo se pierden algunas proteínas solubles, vitaminas y minerales, Figura 3, (Ramírez, 2004). Los músculos contienen aproximadamente un 75% de agua; y los demás componentes restantes incluyen proteínas (20%), lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales. Los músculos rojos (oxidativos) poseen mayor CRA, mejores características de sabor y textura (Huff-Lonergan, 2005).



Fuente: (Warris, 2003).

Figura 3. Consecuencias de la acidificación del músculo sobre el aspecto y la retención de agua en la carne.

Para la evaluación del color en carne y productos cárnicos, se consideran parámetros como el “Blooming” (tiempo de exposición de la carne al aire, exactamente después de cortar la muestra, que preferentemente debe ser de dos horas y como mínimo una hora, a una temperatura máxima de 3°C) y la cantidad de grasa intramuscular o colágeno (marmoreo). El contenido de mioglobina es intrínseco al músculo, dependiendo de los factores tales como: especie, edad, raza, tipo de músculo y grado de nutrición. Durante el almacenamiento, distribución y venta el proceso de oxigenación y oxidación de la mioglobina afectan el color. El periodo *ante mortem*, el proceso de sacrificio y las etapas subsecuentes, afectan el color, por la influencia de la velocidad de la caída del pH y la disminución de la temperatura (Ramírez, 2004).

La carne de conejo al ser evaluada, se puede considerar una carne pálida en relación con la carne de otras especies, pero no presenta el problema de ser PSE (pálida, suave y exudativa). Se caracterizan por ser carnes de acidificación rápida (Ramírez, 2004); como es el caso de la carne de cerdo por lo que se considera la carne de conejo blanca, pero no exudativa (Hulot y Ouhayoun, 1999).

La madurez de la carne de conejo se incrementa de acuerdo al peso: a mayor edad del animal se eleva el contenido lipídico de la carne, especialmente en músculos con grasa extramuscular y en correlación, la disminución de la proteína, agua, así como otros componentes (Dalle Zotte, *et al.*, 1996).

El contenido de colágeno de la carne tiene una relación directa con las propiedades de textura. La concentración de colágeno no varía significativamente con el crecimiento del animal, pero es más insoluble a mayor peso y edad. La velocidad de maduración es más

rápida en músculos blancos (de contracción rápida), que en los músculos rojos (contracción lenta) (Ouali, 1990).

Existen otros factores que afectan las propiedades de textura de la carne como: especie, edad, género, condiciones de estrés *ante mortem*, tipo de músculo, cantidad y solubilidad del colágeno, longitud del sarcómero, fuerza iónica y degradación miofibrilar. Sin embargo, en la carne de conejo, la longitud del sarcómero no se puede considerar un indicador fiable de la terneza, ya que en esta especie este parámetro tiene poca relación con la maduración de la carne (Koochmaraie, 1994). La terneza es un elemento en la gama de sensaciones mecánicas encontradas durante la masticación. La terneza depende de la cantidad y calidad del tejido conectivo y especializado, esto más en animales jóvenes (Hulot y Ouhayoun, 1999).

Los eventos estresantes, por ejemplo, como el que implica el transporte de los animales hacia la sala de sacrificio disminuye las reservas de glucógeno y aumenta la temperatura. Esto no influye sustancialmente en el pH final de la carne, pero si tiene efecto sobre la textura y el color, en respuesta al estrés *ante mortem* (María, *et al.*, 2005).

El contenido de grasa intramuscular en la carne, tiene cierta influencia sobre las propiedades de textura, ya que ejerce una función lubricante entre los dientes y la boca durante el proceso de masticación, mediante la disminución de la fuerza de fricción (Ramírez, 2004).

La caída del pH también depende de las características del músculo (Delmas y Ouhayoun, 1990) ya que la capacidad de acidificación de la carne será determinada por el contenido de glucógeno muscular, afectando a su vez las características de las proteínas y por consecuencia la terneza al final del proceso de acondicionamiento de la carne (Lambertini, *et al.*, 1996).

En los músculos en los que predominan las fibras de contracción rápida o fibras blancas, el pH final alcanza valores de 5.5 en la carne de vacuno o pollo y de 5.8 en la de pavo; en los músculos de contracción lenta, la carne de esas mismas especies alcanzan valores de 6.3, 6.1 o 6.4 respectivamente. En los músculos rojos el proceso de acidificación es más lento, a pesar de la débil capacidad amortiguadora de éstos, mientras que en los músculos blancos no se tiene conocimiento a fondo. En el conejo, el músculo *Longissimus dorsi* tiene capacidad glucolítica mayor y más rápida que en el músculo *Bíceps femoris* (Ouhayoun y Dalle Zotte, 1993).

El descenso del pH *post mortem* a las 24 horas es más rápido en el músculo *Longissimus dorsi* que en el *Bíceps femoris*. El pH de la carne de conejo desciende lentamente 0.27–0.44 unidades/hora (López, 2004).

En estudios realizados por diversos autores como Roncalés y Niedzwiadek, han encontrado diversos valores de pH en el músculo *Bíceps femoris* de 5.87 y hasta 6.03 (Roncalés, *et al.*, 1995), y de 5.98 y 6.0 igualmente en el músculo *Bíceps femoris* (Niedzwiadek, *et al.*, 1996).

Hasta la fecha no se han encontrado conejos con cinética de acidificación o valores de pH últimos anormales como en el caso de cerdo, lo cual puede determinar defectos en la carne, de tal forma que la carne de conejo no es exudativa (Hulot y Ouhayoun, 1999).

Métodos de insensibilización más utilizados y su influencia en la modificación del pH de las canales y calidad de las mismas

La insensibilización o aturdimiento hace referencia a la consecución de un estado de inconciencia en el animal y el degüello al corte de determinados vasos sanguíneos en el cuello o tórax, de tal manera que el animal sangre hasta la muerte (desangrado). La insensibilización previene cualquier posibilidad de que el animal sienta dolor durante dicho desangrado (venas carótidas y yugulares) (Warris, 2003).

La conmoción cerebral, como método de sacrificio desde el punto de vista humanitario no es muy satisfactorio (dicho método fue utilizado desde finales del siglo XIX). El método de aturdimiento eléctrico se implementó a finales de 1920; y el aturdimiento con gas CO₂ fue efectuado en 1950. Hoy en día, los métodos de sacrificio autorizados por el Consejo Directivo de los Estados Unidos son aquellos que provean el menor sufrimiento, evitando en mayor medida el dolor, agitación o estrés, lesiones o contusiones. Entre ellos están: 1. Pistola de émbolo oculto, bala percusora o bala libre (los misiles más utilizados para sacrificio animal son: bala, tornillo, presión de aire y chorro de agua), 2. Contusión cerebral, 3. Electronarcosis y 4. Exposición al gas de dióxido de carbono (Lambooi, *et al.*, 1999).

La insensibilización mecánica se usa generalmente para toros y cerdos. Para cada tipo de animal se utilizan diferentes tipos de cartuchos. Este método provoca numerosas

convulsiones, lo que conduce a una acidificación más rápida del músculo, dando como resultado carnes del tipo PSE.

El aturdimiento con dióxido de carbono, a una concentración del 80-90% en volúmen y exposición de 90 s (aproximadamente) para lograr el aturdimiento; si se sobrepasa el tiempo de exposición, puede llegar a morir el animal. Este método es más utilizado en ganado porcino. El gas es un potente estimulante respiratorio, que provoca jadeo y asfixia, por lo que el método llega a ser muy estresante. La combinación de dióxido de carbono (70%) y el gas inerte argón (30%) funciona un poco mejor, ya que reduce el poder irritante del dióxido de carbono (Warris, 2003).

El aturdimiento por percusión conduce a un colapso inmediato, cesando la respiración rítmica y quedando rígido y con la cabeza extendida (fase tónica) y dura de 10 a 20 s seguida por un periodo de movimientos de pataleo involuntario de las extremidades (fase clónica). Este método efectuado correctamente, tiende a disminuir los hematomas de la canal (moteado de sangre).

La insensibilización eléctrica produce una interrupción en la actividad eléctrica normal en el cerebro provocando un cuadro epiléptico (electroepilépsia). Durante este aturdimiento hay un gran aumento en la liberación de glutamato y aspartato, sobreexcitando las neuronas en el cortex sensorial del cerebro. Inicia la fase tónica (rigidez, cese de la respiración y globo ocular fijo) 15-20 s después inicia fase clónica (movimientos de pataleo). El voltaje utilizado para la insensibilización eléctrica varía con las diferentes especies animales generalmente los electrodos son colocados en la cabeza del animal o cabeza-dorso, en el

caso del pollo (Warris, 2003). La aplicación de este método por un tiempo muy prolongado (más de 3 s) produce una acidificación muy rápida, en ocasiones produce moteado de la canal, hemorragias y ruptura de huesos.

Efecto de la insensibilización eléctrica

La estimulación eléctrica nació en Nueva Zelanda en la década de los setenta, como respuesta a los problemas suscitados en la calidad de la carne de ovino al refrigerar las canales de forma rápida.

La electroanestesia acelera la acidificación muscular, modificando con esto el pH muscular final (Hulot y Ouhayoun, 1999).

El método legalmente recomendado es el electrocoma a bajo voltaje (<100 V, 50Hz) o el electroshock (arriba de 320 V, 50Hz) (Hulot y Ouhayoun, 1999).

Cualquier método de aturdimiento o insensibilización que emplee un extremo estrés y violencia dará como resultado la liberación de catecolaminas, asociadas a la depleción de las reservas de energía y la reducción de la acidificación.

El aturdimiento mediante electroanestesia a alta frecuencia (4,000 Hz), en comparación con el electroshock (270 V, 50 V) puede aumentar la descarga de adrenalina acelerando la evolución del *rigor mortis*, pero sin modificar el pH. Sin embargo, el primer método además de ser muy peligroso para los operadores resulta ser doloroso para los conejos y causa subsecuentemente contracciones musculares violentas que pueden provocar fracturas óseas, por tanto el método no es utilizado en la práctica.

Actualmente, el método de aturdimiento o insensibilización empleado en conejos es el electroshock (320 V, 50 Hz), seguido del corte de la vena yugular y arteria carótida.

En comparación con el método de insensibilización como el desnucamiento, el electroshock favorece el empobrecimiento de las reservas musculares de energía (ATP, [PC] creatín fosfato y glucógeno) y provoca el acortamiento de las sarcómeras, pero al parecer no causa grandes efectos sobre el pH, sobre el proceso de maduración o en la terneza de la carne de conejo (Dalle Zotte, 2002).

Los métodos de sacrificio mediante electroinsensibilización que utilizan bajo voltaje, reflejan un pH final mayor; independientemente del amperaje utilizado. El pH elevado está dado porque la circulación sanguínea permanece activa por más tiempo, ya que el tiempo de sacrificio es mayor, por lo tanto, la circulación sanguínea favorece la derivación del ácido láctico en el hígado, causando así, un pH muscular elevado.

En contraste, la electroinsensibilización con alto voltaje y dislocación de vértebras se observa un pH inicial bajo, esto dado porque la circulación sanguínea se detiene por completo y repentinamente (Dal Bosco, *et al.*, 1997).

King, *et al.*, (2004), aplicaron a un grupo de cabritos estimulación eléctrica de alto voltaje (550 V; 1.8 s por 2 min) (tratamiento uno) y a un segundo grupo estimulación eléctrica a bajo voltaje (20 V; 2 s a 3 s por 2 min) (tratamiento dos). En ambos tratamientos los electrodos se colocaron en la nuca de los animales. 20 minutos posteriores al sacrificio las canales son enfriadas por 24 horas a 2°C. El resultado del experimento demostró que no hubo cambios en la temperatura muscular en los dos grupos. El pH muscular descendió rápidamente con la aplicación de estimulación eléctrica de alto voltaje. Este tipo de

estimulación eléctrica incrementa la terneza muscular ($P < 0.05$), desde 1 a 3 días *post mortem*, incluso hasta 14 días después *post mortem* se apreció una mayor terneza de la canal de cabrito (King, *et al.*, 2004).

En cerdos, la utilización de insensibilización eléctrica *ante mortem* a 300 V por 3 s, se traduce en una depleción del pH *post mortem*. Este procedimiento se considera un factor de estrés importante para el animal y por ende, cambian las características de calidad de la carne. Dicho estrés afecta negativamente la CRA en el músculo *Longissimus lumborum* a 24 horas *post mortem*, temperaturas altas en los músculos *Semimembranosus* .y *Longissimus lumborum* y un *rigor mortis* elevado, valorado a 45 min *post mortem* (Van der Wal, *et al.*, 1999).

El estrés induce cambios en la calidad de la carne, por lo cual la adrenalina es muy probable que juegue un rol muy importante en la determinación de la calidad de la misma. Tanto el ejercicio como el estrés inducen la liberación de adrenalina en sangre (Terlow, 2005).

En un estudio realizado por Geesink, *et al.*, (2001) en carne de cordero, demostró que la estimulación eléctrica 30 min *post mortem* acelera la declinación del pH final muscular 24 horas *post mortem*, a diferencia de canales que no fueron estimuladas. Un grupo de corderos dentro de esta misma investigación fueron sometidos a estrés mediante baño 3 horas antes del sacrificio y el uso de perros azuzándoles en la rampa de entrada al matadero. Este tratamiento dio como resultado, un incremento significativo del pH varios minutos *post mortem* persistiendo incluso hasta 48 horas después, dando como

consecuencia la reducción de las reservas de glucógeno muscular *ante mortem* y como resultado la disminución de la producción de ácido láctico *post mortem*.

La estimulación eléctrica acorta el tiempo de instauración del *rigor mortis* a través de dos fases de aceleración de la glicólisis, la primera durante la estimulación y la segunda pasada la estimulación. Durante la estimulación eléctrica el pH desciende del orden de 0.7 unidades en dos minutos, esto representa un aumento de la velocidad de 100 a 150 veces. En ovinos, conejos y porcinos la velocidad del descenso del pH post estimulación parece ser el doble de lo normal (López y Casp, 2004).

Los voltajes elevados (500-1000 V) son eficaces para acelerar la glicólisis *post mortem* cuando se aplican durante 1.5 a 2 min mientras que con voltajes bajos (100 V) se requiere de mayor tiempo (aprox. 4 min), normalmente se utilizan estos últimos. La estimulación eléctrica generalmente es aplicada en canales de vacuno y ovino, ya que en el porcino la instauración del *rigor mortis* es más rápida (López y Casp, 2004).

Efecto de la estimulación eléctrica

Inicialmente, la aplicación de la estimulación eléctrica a las canales fue utilizada para prevenir el acortamiento por frío (Carse, 1973). Mas tarde, se observó que la estimulación eléctrica acelera la terneza *post mortem* (Geesink, *et al.*, 2001).

La estimulación eléctrica *post mortem*, consiste en someter al animal muerto a una descarga eléctrica de 25.000 a 30.000 V, que favorecen la ruptura de membranas y de lisosomas

permitiendo la acción acelerada de las enzimas proteolíticas y, por lo tanto, afectan el ablandamiento de la carne (Carballo, *et al.*, 2001).

Es preferente la aplicación de corriente alterna para la estimulación eléctrica. Los tratamientos de la estimulación eléctrica se dividen en 3, dependiendo del voltaje aplicado: estimulación a extra-bajo voltaje (ELVES), caracterizado por un pico máximo de voltaje arriba de 45 V; estimulación a bajo voltaje (LVES) caracterizado por un punto máximo de voltaje de 100 V y la estimulación eléctrica de alto voltaje (HVES) que tiene un pico máximo de voltaje valuado en rangos de 100 V a 3000 V. Durante las estimulaciones eléctricas de ELVES y LVES la contracción muscular es estimulada por la influencia de la corriente eléctrica del sistema nervioso. Por esta razón, estos tipos de estimulación son aplicados durante 15 min después del sacrificio, cuando éste sistema se encuentra aún operando. Durante HVES, la estimulación toma el lugar de sistema nervioso y la conductibilidad de las fibras musculares (Zywica, *et al.*, 2007).

Este tipo de tratamiento provoca en el tejido muscular de la canal la imitación de impulsos nerviosos durante la primera hora después del sacrificio. Durante la estimulación eléctrica en la canal, hay varios procesos compatibles con la estimulación nerviosa en el animal vivo (Zywica, *et al.*, 2007).

La estimulación eléctrica de las canales en varios momentos tras el sacrificio acelera los procesos normales *post mortem* por medio de las intensas contracciones musculares. Estas consumen glucógeno y la creatín fosfato, promoviendo una rápida caída del pH y un desarrollo temprano del *rigor mortis*. Debido a que la canal todavía conserva una

temperatura alta tras la estimulación, el retículo sarcoplásmico puede captar el calcio previamente liberado y el músculo entra en rigor en un estado relajado (Warris, 2003).

Las condiciones anaeróbicas de este proceso resulta en la producción y el incremento de la cantidad de ácido láctico, dando como resultado la caída el pH de 0.3 a 0.7 unidades (Zywica, *et al.*, 2007).

Las calpaínas forman parte de la clase de cisteínproteinasas, actúan a un pH óptimo de 7-7.5 y requieren de calcio para su actividad. Este sistema de proteinasas (Cuadro 2), consta de tres componentes bien documentados, dos proteinasas, calpaína I ó μ calpaína y la calpaína II ó m calpaína, y un inhibidor específico de las mismas (calpastatina) (Roncalés, *et al.*, 1995). La m-calpaína necesita contracciones milimolares de calcio para su actividad, mientras que la μ -calpaína requiere solo concentraciones micromolares del catión para su activación. Durante el almacenamiento *post mortem*, los niveles de m-calpaína permanecen casi constantes, mientras que los de la μ -calpaína disminuye rápidamente por tal razón Koohmaraie (1998), refiere que solo la μ -calpaína está involucrada en la maduración de la carne.

Las catepsinas son proteinasas que se encuentran en casi todos los tejidos animales. Estas se encuentran encerradas en los lisosomas. Existen ocho catepsinas musculares A, B, C, D, H, L, J, y la carbopeptidasa lisosomal B. Las catepsinas parecen tener una gran actividad en las células del músculo esquelético y son activadas a pH ácidos (4.0-6.0).

Sistema enzimático	Reguladores	pH óptimo	Localización
Calpaínas μ-Calpaína (I) m-Calpaína (II) Calpaína-3	Calcio pH Fosfolípidos Activadores Inhibidores (calpastatina)	7.5	Citoplasma
Catepsinas Catepsina B Catepsinas D Catepsinas H Catepsinas L	Grado de liberación de los lisosomas Inhibidores (cistatinas)	4.0-6.0	Lisosomas
Proteinasa Multicatalítica (MCP)	pH Inhibidores	7.5-8.0	Citoplasma

Fuente: Koohmaraie, 1998.

Cuadro 2. Principales proteinasas del músculo y sus características

Existen algunos factores que apoyan la teoría de que las catepsinas no intervienen en la maduración de la carne (como las bajas temperaturas usadas en la maduración de la carne, la presencia de fuertes inhibidores en el sarcoplasma y el hecho de que el pH del músculo *post mortem* está lejos del óptimo para su actividad) (Ramírez, 2004). Los siguientes argumentos apoyan una participación parcial de las catepsinas en la maduración después de ser liberadas de los lisosomas en el músculo *post mortem*:

- Existen similitudes en los cambios estructurales de las miofibrillas durante el acondicionamiento y con el tratamiento con catepsinas (Campo, 1999).

- El incremento de la terneza obtenido con los tratamientos de estimulación eléctrica, altas presiones o altas temperaturas se explican por un aumento en la actividad proteolítica de las enzimas lisosomales liberadas (Ramírez, 2004).

La acidificación del músculo durante la instauración del *rigor mortis*, va acompañada, paralelamente de un incremento de la presión osmótica, por lo que algunos autores sugieren la posibilidad de una acción sinérgica entre las fuerzas iónicas y las proteinasas en el proceso de la maduración (Campo, 1999, Ouali, 1992).

En conejos, la estimulación eléctrica aumenta el rango en el pH alcanzado, pero no lo modifica (Hulot y Ouhayoun, 1999). Esta estimulación se aplica en la preparación de la canal, en el momento del sacrificio. Esto acelera la acidificación y la reducción del ATP muscular y consecuentemente es capaz de evitar el riesgo del “acortamiento por frío” o “rigor por deshielo”.

La estimulación favorece la acidificación muscular y también mejora la calidad higiénica de la carne. Esta acidificación muscular ocurre en dos actos: Durante la estimulación, donde el pH desciende alrededor de 0.3 unidades cuales quiera que fuese el estímulo y la intensidad de la corriente aplicada y después de la estimulación, el rango de la acidificación se cierra, por el tipo de la descarga eléctrica (Hulot y Ouhayoun, 1999).

Después de una descarga eléctrica de 250 voltios y 15 Hz por 120 segundos (2 minutos), el pH desciende y la hidrólisis del ATP es dos o tres veces más rápida en los músculos *Longissimus dorsi*, *Bíceps femoris* y *Triceps brachii* que los músculos no estimulados. Las descargas de alta tensión son más efectivas desencadenando los efectos de la post

estimulación. Todos estos fenómenos fisicoquímicos en conjunto resultan en una degradación de la CRA (Hulot y Ouhayoun, 1999).

El resultado de una estimulación eléctrica intensa es que se acortan las sarcomeras, acelerando la proteólisis *post mortem*, como se puede evidenciar en el Índice de Fragmentación Miofibrilar 24 hr después.

Hwang, *et al.*, (2001) mencionan en un estudio realizado en bovinos que tanto el pH y la temperatura declinan tempranamente *post mortem* por acción de las calpainas y calpastatinas, esto con ayuda de la estimulación eléctrica y el rápido enfriamiento *post mortem*; dando como resultado mayor ternura en la carne. Esta información puede ser usada para optimizar las condiciones de tratamiento para la maximización de las características de la calidad de la carne.

Debido a que la temperatura de la canal permanece todavía alta tras el cese de la estimulación, el retículo sarcoplásmico puede captar el calcio previamente liberado y el músculo entra en *rigor mortis* en un estado relajado. Tras el *rigor* el músculo ya no responde a la contracción por el estímulo del frío inducido por una refrigeración rápida y por tanto no hay riesgo de endurecimiento. Además de prevenir el acortamiento de las fibras musculares por frío, la estimulación eléctrica también parece ablandar la carne, mejorar su apariencia y el flavor (flavor son las percepciones olfativas y gustativas durante la degustación) (Warris, 2003).

Enfriamiento de las canales post mortem

En el proceso de enfriamiento de las canales ocurre el periodo crítico del *rigor mortis*, perdiendo progresivamente la elasticidad muscular y comienza la acidificación. En las tres primeras horas de enfriamiento de las canales el rango de acidificación es mucho más lento a 2° C que a 12° C (es de 0.19 contra 0.13 unidades de pH por hora) (Ouhayoun y Poujardieu, 1990). Manteniendo las canales en un cuarto a una temperatura de 2°C se favorece la acidificación muscular, esto a través de la aceleración de la depleción de las reservas de energía, pero no influenciando así el pH final del músculo (22 horas *post mortem*), éste depende más de las reservas de energía al momento del sacrificio así como del método utilizado para el sacrificio.

El enfriamiento del tejido muscular por consiguiente implica un lento descenso del fenómeno fisicoquímico, excepto cuando el acortamiento por frío se desarrolla. Este fenómeno ocurre más frecuentemente en ovejas y bovinos, cuando son sometidos a un enfriamiento excesivo *ante rigor* (Ouhayoun y Poujardieu, 1990).

Basados en la medición de la longitud de las sarcómeras, diferentes músculos revelaron ser más o menos susceptibles al acortamiento por frío; un ejemplo de esto es el músculo *Semitendinoso* el cual es un músculo oxido-glicolítico. El *Tensor de la fascia lata*, el *Bíceps femoris* y el *Gracilis*, que son poco oxido-glicolíticos, no presentan un gran cierre de las sarcómeras por el enfriamiento (5-7%), es parcialmente inhibido por el colgamiento de las canales durante el enfriamiento (Ouhayoun y Poujardieu, 1990).

Es un hecho que, el rápido enfriamiento de las canales puede acarrear el acortamiento de las sarcómeras en ciertos músculos, pero si el acortamiento es también pequeño se provoca dureza de la carne (Haddad, *et al.*, 2004).

Existe mucha ambigüedad en los resultados de ciertos estudios pero en realidad el fenómeno del acortamiento por frío resulta no tener mayor importancia en conejos (Hulot y Ouhayoun, 1999).

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

La presente investigación se realizó en la Primavera del año 2007, empleando 80 conejos de la raza Nueva Zelanda, provenientes del Módulo de Cunicultura del Centro de Enseñanza Agropecuaria de la F.E.S. Cuautitlán UNAM, mientras que la parte experimental tuvo lugar tanto en el taller de Carnes como en el laboratorio de Bioquímica-Genética de MVZ de dicho centro de estudios.

Manejo general de los animales

Los conejos se alojaron en jaulas polivalentes de alambre galvanizado y se les proporcionó alimento comercial y agua *ad libitum* (Figura 4). A la edad de 70 días fueron enviados al Taller de carnes en donde se sacrificaron conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995. Los animales se asignaron al azar en cada uno de cuatro tratamientos, siendo 20 conejos por tratamiento (10 hembras y 10 machos). Los animales del tratamiento I (Testigo) fueron insensibilizados por desnucamiento (Figura 5), los conejos del tratamiento II se insensibilizaron por desnucamiento y las canales se estimularon eléctricamente dentro de los 20 minutos después del sacrificio (120 voltios) (Figura 6), en el tratamiento III los animales se insensibilizaron por estimulación eléctrica (120 voltios por 6 s) (Figura 7). En el tratamiento IV se aplicó estimulación eléctrica como método de insensibilización y las canales fueron estimuladas eléctricamente dentro de los 20 minutos postsacrificio.



Figura 4. Conejos de la raza Nueva Zelanda de 70 días de edad, alojados y transportados en jaulas metálicas.



Figura 5. El desnucamiento fue empleado para insensibilizar a los conejos asignados al tratamiento I.



Figura 6 Canales estimuladas eléctricamente inmediatamente después del sacrificio



Figura 7. En la insensibilización eléctrica las pinzas se colocaron en la región auricular y anal.

Para insensibilizar eléctricamente a los conejos éstos fueron colgados por las extremidades posteriores y se les colocaron dos pinzas para conducir la corriente eléctrica, una en la oreja y otra en el ano. Los animales fueron sacrificados mediante exsanguinación por corte de la arteria carótida y vena yugular. El faenado se realizó siguiendo las pautas habituales en el taller de carnes.

La medición del pH del músculo *Bíceps femoris* se efectuó *in situ* realizando una incisión de 3 mm de profundidad. El pH se midió empleando un potenciómetro 410A plus Orion (Figura 8) y la temperatura se evaluó con un termómetro HANNA 210 (Figura 9). La valoración del pH y temperatura se llevó acabo inmediatamente después del sacrificio 0 h (20 min), 2, 4 y 24 horas *post mortem*, refrigerándose las canales a 4° C a partir de los 30 minutos pos-sacrificio (Figura 10). En la figura 11 se describe un diagrama general de flujo de la metodología del experimento.

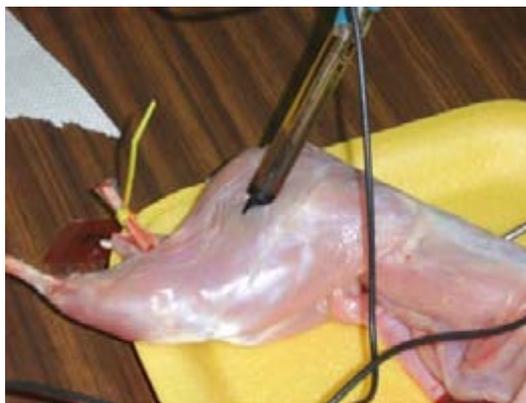


Figura 8. Medición de pH en el músculo *Bíceps femoris*

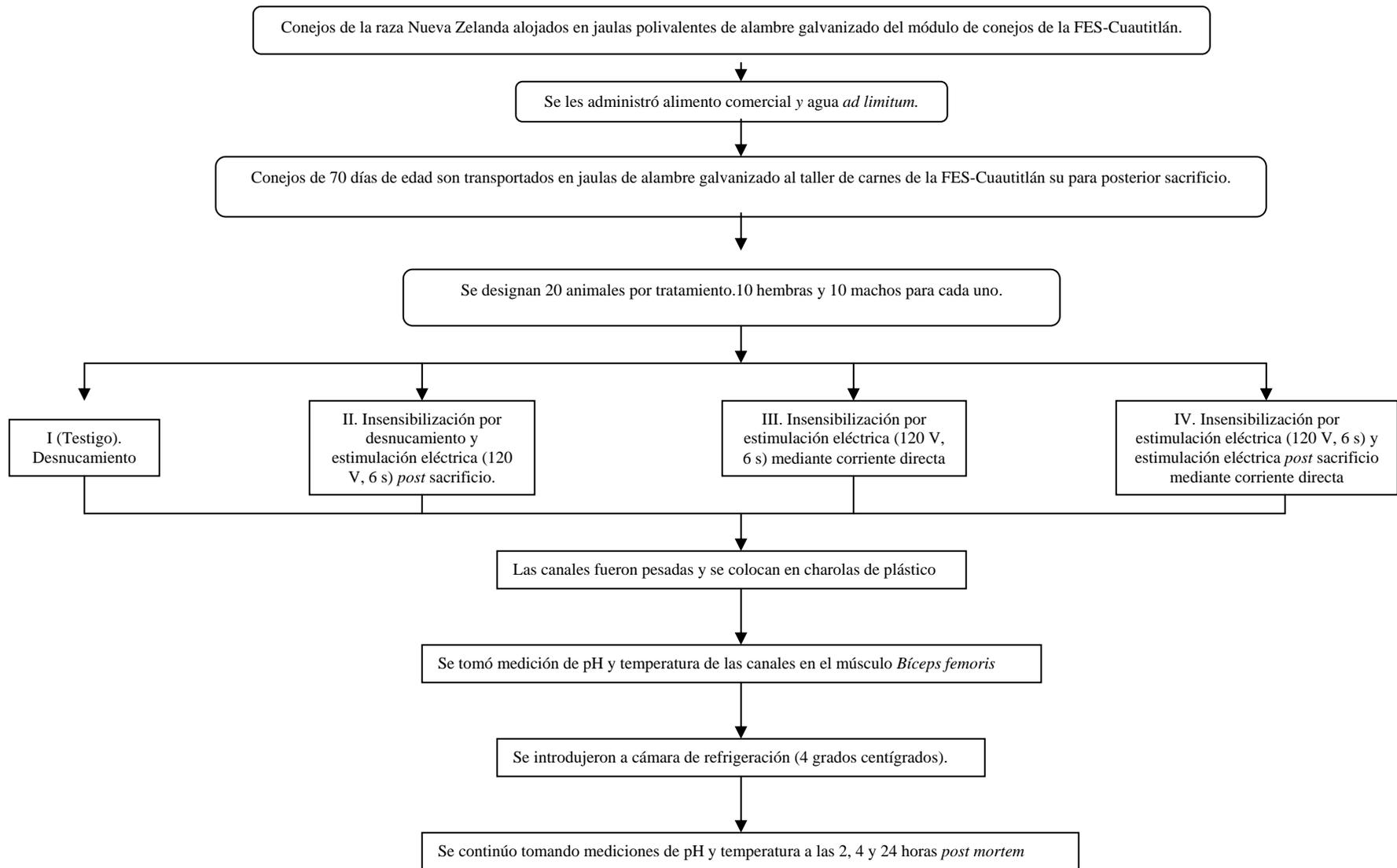


Figura 9. Medición de la temperatura en el músculo *Bíceps femoris*.



Figura 10. Las canales fueron colocadas en charolas después de las mediciones para su refrigeración.

Figura 11. Diagrama de flujo: metodología del experimento.



Análisis estadístico de la información

Los datos obtenidos se analizaron empleando un modelo estadístico que incluyó el efecto del tratamiento, sexo y su interacción; utilizando el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + S_j + (TS)_{ij} + E_{ijk}.$$

donde:

Y_{ijk} = pH y temperatura analizada en el ijk-ésimo conejo.

μ = Media general.

T_i = Efecto fijo del i-ésimo tratamiento (i= 1, 2, 3, 4).

S_j = Efecto del j-ésimo sexo (j= 1 y 2).

$(TS)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el tratamiento y sexo.

E_{ijk} = Error aleatorio

Se utilizó el procedimiento general de modelos lineales (GLM de SAS, 1996) y la diferencia entre medias se comparó con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

RESULTADOS

Se encontraron diferencias ($P < 0.05$) entre tratamientos con respecto a los valores de pH_{0h} , pH_{2h} *post mortem* en el músculo *Bíceps femoris* (Cuadro 3). Así mismo, se determinó que el efecto sobre el valor de la temperatura fue significativo ($P < 0.05$) solamente durante los primeros 20 minutos *postmortem* (pH_{0h}) (Cuadro 4). El sexo y su interacción con el tratamiento no fueron significativos ($P > 0.05$).

Cuadro 3. Medias y desviaciones estándar de pH del músculo *Bíceps femoris* por efecto de la estimulación eléctrica.

	pH_{0h}	pH_{2h}	pH_{4h}	pH_{24h}
Tratamientos				
I	6.73 ± 0.32^A	6.47 ± 0.26^A	6.35 ± 0.33^A	6.02 ± 0.17^A
II	6.43 ± 0.41^{AB}	6.20 ± 0.31^B	6.17 ± 0.29^A	5.99 ± 0.18^A
III	6.39 ± 0.38^B	6.24 ± 0.35^{AB}	6.23 ± 0.34^A	5.99 ± 0.20^A
IV	6.28 ± 0.35^B	6.14 ± 0.26^B	6.18 ± 0.20^A	6.01 ± 0.12^A

I= Desnucamiento, II= Desnucamiento y estimulación eléctrica de las canales, III= Insensibilización eléctrica, IV= Insensibilización eléctrica y estimulación eléctrica de las canales.

Letras diferentes marcan discrepancias significativas dentro de cada columna (Tukey; $p < 0.05$).

Cuadro 4. Medias y desviaciones estándar de la temperatura del músculo *Bíceps femoris* por efecto de la estimulación eléctrica

	Temp _{0h}	Temp _{2h}	Temp _{4h}	Temp _{24h}
Tratamientos				
I	30.60 ± 2.05^B	20.98 ± 1.72^A	13.72 ± 2.28^A	4.86 ± 1.50^A
II	30.87 ± 2.36^{AB}	20.95 ± 1.75^A	13.93 ± 2.16^A	5.23 ± 1.54^A
III	32.54 ± 1.90^A	21.27 ± 1.78^A	14.02 ± 2.41^A	4.73 ± 1.37^A
IV	31.61 ± 1.62^{AB}	21.25 ± 1.74^A	13.96 ± 2.17^A	5.16 ± 1.44^A

I= Desnucamiento, II= Desnucamiento y estimulación eléctrica de las canales, III= Insensibilización eléctrica, IV= Insensibilización eléctrica y estimulación eléctrica de las canales.

Letras diferentes marcan discrepancias significativas dentro de cada columna (Tukey; $p < 0.05$).

En las figuras 12 y 13 se muestra la cinética del pH y temperatura del músculo en estudio.

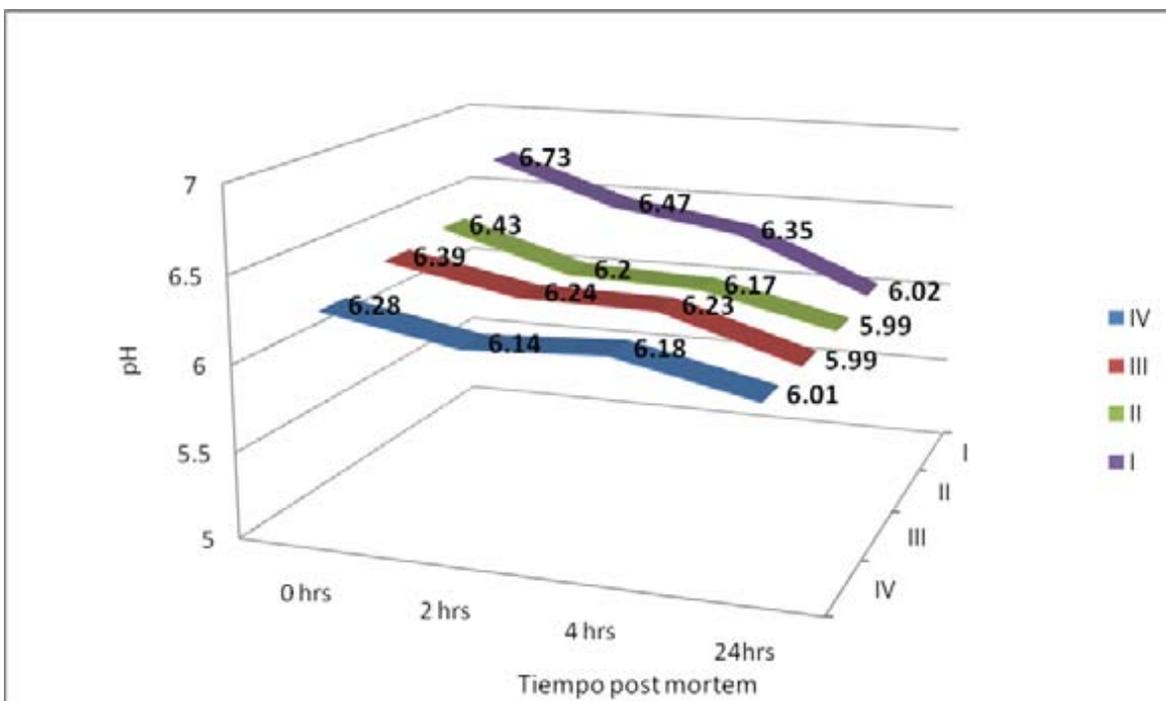


Figura 12. Cinética del pH del músculo *Biceps femoris* a diferentes tiempos.

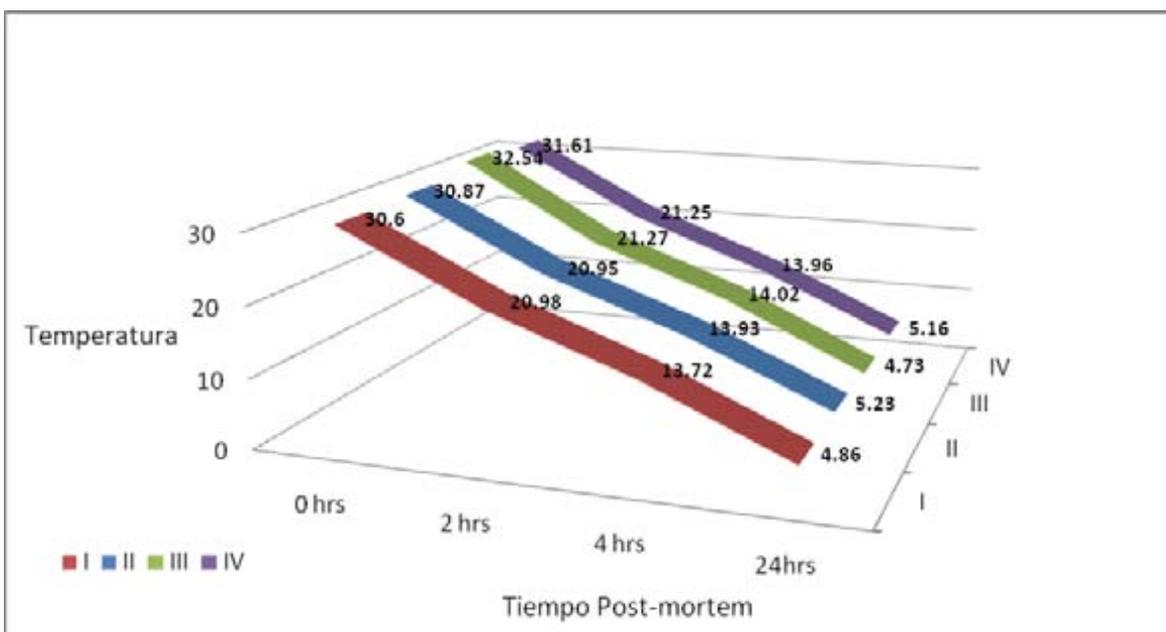


Figura 13. Cinética de la temperatura del músculo *Biceps femoris* a diferentes tiempos.

En los Cuadros 5 y 6 se registraron valores mínimos y máximos de pH y temperatura para los tratamientos. El valor más bajo entre los cuatro tratamientos para pH_{0h} fue de 6.28 (IV), para pH_{2h} fue de 6.14 (IV), pH_{4h} 6.17 (II) y para pH_{24h} fue de 5.99 (II y III).

En el caso de la temperatura, las cifras más bajas para las cuatro mediciones y tratamientos fueron: Temp_{0h} 30.60 ((I), Temp_{2h} 20.95 (II), Temp_{4h} 13.72 (I) y para Temp_{24h} fue de 4.73 (III).

Cuadro 5. Valores mínimos y máximos de pH y temperatura para los 4 tratamientos, registrados a diferentes tiempos *post mortem*.

Hora de medición	Valor más elevado de pH	Valor más bajo de pH	Valor más elevado de temperatura (°C)	Valor más bajo de temperatura (°C)
CIFRAS REGISTRADAS				
0	6.73	6.28	32.54	30.60
2	6.47	6.14	21.27	20.95
4	6.35	6.17	14.02	13.72
24	6.02	5.99	5.23	4.73

Cuadro 6. Comportamiento de los 4 tratamientos en el pH y temperatura registrados a diferentes tiempos *post mortem*.

Hora de medición	Valor más elevado de pH	Valor más elevado de temperatura	Valor más bajo de pH	Valor más bajo de temperatura
T R A T A M I E N T O S				
0	I	III	IV	I
2	I	III	IV	II
4	I	III	II	I
24	I	II	II y III	III

DISCUSIÓN

La temperatura muscular se incremento inmediatamente después del sacrificio en los animales que fueron insensibilizados eléctricamente (tratamiento III), excepto en la medición de Temp_{24h}, ya que aquí el tratamiento III registro la temperatura más baja de entre los cuatro tratamientos (4.73 °C).

El tratamiento II registro el valor de temperatura final (Temp_{24h}) más elevada ya que tuvo un registro de 5.23 °C.

En aquellas canales a las cuales se les insensibilizó de esta misma forma y se estimuló la canal a través de electricidad inmediatamente de después del sacrificio (tratamiento IV), quedó en tercer lugar de temperatura más elevada, registrando un valor de Temp_{24h} de 5.16 °C.

El registro más bajo de la temperatura a las 24 horas *post mortem* se obtuvo en el músculo de los individuos del tratamiento III (4.73 °C).

Las mediciones de la temperatura muscular a las 0, 2 y 4 horas *post mortem* en las canales de los animales que se insensibilizaron a través de desnucamiento (tratamientos I y II) fueron valores bajos, para el tratamiento I los valores fueron a estos tiempos de 30.60 °C, 20.98 °C y 13.72 °C y para el tratamiento II 30.87 °C, 20.95 °C y 13.93 °C.

El descenso de la temperatura *post mortem* fue más rápido en las canales de los tratamientos I (desnucamiento) y II (desnucamiento y estimulación eléctrica), mientras que la medición de Temp_{24h} fue el tratamiento III el cual presentó el valor más bajo (4.73 °C).

El descenso del pH *post mortem* fue más rápido en las canales de los tratamientos II, III y IV, mientras que la caída del pH en el tratamiento testigo fue más lenta; lo cual denota que la estimulación y/o insensibilización eléctrica aplicada en canales de conejos tiene un efecto significativo para la disminución del pH con mayor velocidad dentro de las primeras 24 horas *post mortem*.

La estimulación eléctrica aplicada *post mortem* en el tratamiento IV ocasionó un veloz descenso del pH inicial (0 horas) con un valor de 6.28 en el *Biceps femoris* de las canales de conejo, pero no tuvo efectos sobre el pH final, registrando a las 24 horas *post mortem* un valor de 6.01. De tal forma que, la estimulación e insensibilización eléctrica utilizadas en conjunto, no disminuyen de manera dramática la caída del pH *post mortem*. Estos resultados igualmente han sido reportados por otros autores (Bendall, 1976; Hwang y Thompson, 2001; Geesink, *et al.*, 2001; Thompson, 2002; King, *et al.*, 2004; White, *et al.*, 2006).

El tratamiento II, en el cual se utilizó estimulación eléctrica *post mortem* y el tratamiento III con insensibilización eléctrica como método de aturdimiento demostraron que utilizados éstos tratamientos de manera separada provocan una caída del pH final más notoria, dando como resultado en este experimento valores iguales a pH 24 horas 5.99.

Bendall, 1976; menciona que la electroestimulación de las canales tras el sacrificio, acelera los procesos normales *post mortem* por medio de intensas contracciones musculares. Estas aceleran la glucólisis anaerobia, utilizándose el glucógeno, ATP y el creatín fosfato, promoviendo una caída rápida del pH y un desarrollo temprano del *rigor mortis*. Dado que la temperatura de la canal permanece aún alta, tras el cese de la estimulación, el retículo

sarcoplásmico puede captar el calcio previamente liberado y el músculo entra en *rigor* en un estado relajado. La liberación de calcio durante la contracción podría estimular las calpaínas cuando la temperatura y el pH fueran todavía elevados, y causar una degradación proteica. De esa manera, la electroestimulación induce a la obtención de carne con una mayor ternura (Savell, 1981; Thompson, 2002; Hwang, *et al.*, 2003).

Todas las canales fueron sujetas a idénticas condiciones de enfriamiento (a 4° C en cámaras especiales para enfriamiento cárnico). Sin embargo, las diferencias en la temperatura muscular inmediatamente post sacrificio reflejan que en el tratamiento III, a pesar que inicio con temperatura alta (32.54 °C) a las 0 horas, 21.27 °C a las 2 horas y 14.02 °C a las 4 horas *post mortem*, fue el tratamiento que a las 24 horas reportó canales con temperatura menor (4.73 °C) a la de los tratamientos restantes. La explicación a este aumento de la temperatura sostenida durante las mediciones a 0, 2 y 4 horas *post mortem* se debe a que hay un aumento en la descarga de adrenalina y catecolaminas, acelerando el *rigor mortis*, además de que los músculos retienen el calor que les proporcionó la insensibilización. Está bien establecido, que el músculo es metabólicamente activo y genera calor durante el período *pre rigor*, principalmente por la conversión de glucógeno a ácido láctico pero también por el calor generado por la hidrólisis de CP y ATP.

Es de gran importancia mantener una cadena fría estable, ya que esto mantiene el progreso de los procesos bioquímicos de maduración que ayudan al descenso del pH muscular.

El pH de la carne es un indicador extremadamente importante del estado del tejido muscular y el equilibrio metabólico, los cuales dependen de los parámetros de crecimiento

y factores como la dieta, características genéticas y la evolución fisicoquímica *post mortem* como resultado del tratamiento *pre* y *post* sacrificio. De esta forma, en este estudio se determinó que el método de insensibilización y/o estimulación eléctrica afecta tempranamente el proceso de acidificación del pH muscular. Efecto como este ha sido descrito por Civera, *et al.*, 1989., Hulot y Ouhayoun, 1999; y Polodori, *et al.*, 1999; quienes explican que la insensibilización eléctrica produce una tetania de la musculatura entera, un ascenso instantáneo de la temperatura muscular alrededor de 1°C y una intensa secreción de catecolaminas. El estrés de la electroanestesia acelera la acidificación del pH muscular inicial pero no modifica el pH final en la carne de conejos. La insensibilización eléctrica no afectó el pH final siendo similares los resultados obtenidos en esta investigación a los reportados por otros autores (Dal Bosco, *et al.*, 1997; María, *et al.*, 2001;) quienes establecen que el pH a las 24 horas es independiente del método de aturdimiento

CONCLUSIONES

Éste experimento manifiesta que la estimulación eléctrica como método de insensibilización y/o la aplicación de corriente eléctrica en la canal inmediatamente post sacrificio en conejos, influyó en el descenso del pH con mayor rapidez en el músculo *Bíceps femoris*.

La influencia que tuvo la estimulación eléctrica sobre la temperatura de las canales de conejo fue más notorio en los tratamientos II (5.23°C) y IV (5.16°C), ya que los valores reportados a las 24 horas *post mortem* fueron elevados, mientras que el tratamiento III a las 24 horas tuvo el valor más bajo entre los 4 tratamientos (4.73°C).

La aplicación de corriente eléctrica temprana y directa post sacrificio sobre la canal reduce el pH inicial y consecuentemente puede mejorar la terneza de la carne de conejos, sugiriéndose investigar en más estudios relacionados con este tema.

Las diferencias más notorias en las mediciones de pH fueron en las horas 0, 2 y 4 *post mortem* para los tratamientos II, III y IV en comparación al grupo testigo. Por otra parte, la insensibilización eléctrica y la estimulación eléctrica de las canales inmediatamente después del sacrificio no influyeron marcadamente sobre el pH final muscular (24 horas), ya que solo difieren por 1 o 2 puntos en comparación al grupo testigo.

Estos métodos de insensibilización y estimulación eléctrica de las canales se deben considerar a nivel comercial, ya que ocasiona que el pH inicial muscular descienda a valores más bajos, y la aplicación conjunta de estos métodos ocasiona una acidificación de la canal más rápida.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.** Campo M. M. Influencia de la Raza, sobre la textura y las características sensoriales de la carne Bovina a lo largo de la maduración. (tesis doctoral). Zaragoza, España. Facultad de Veterinaria., Universidad de Zaragoza, España. 1999.
- 2.** Carballo B., López G., Madrid A. Tecnología de la Carne y de los Productos Cárnicos. ed. Mundi-Prensa. Madrid (España). 2001. 34-35, 52-58
- 3.** Carse, W. A. Meat quality and acceleration of post mortem glycolysis by electrical stimulation. *Journal of Food Technology*. 1973; 8: 163-166.
- 4.** Civera T., Julini M., Quaglino G. Influence of stunning methods on quality of rabbit meat. *Industri Alimentari*. 1989; 28 (271):492-495.
- 5.** Dal Bosco A., Castellini C., Bernardini M. Effect of transportation and stunning method on some characteristics of rabbit carcasses and meat. *World Rabbit Science*. 1997; 5 (3): 115-119.
- 6.** Dalle Zotte A., Ouhayoun J., Parigi Bini R., Xiccato G. Effect of age, diet and sex on muscle energy metabolism and related physicochemical traits in the rabbit. *Meat Science*. 1996. 43: 15-24.
- 7.** Dalle Zotte A. Perception of rabbit meat quality and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock Production Science*. 2002; 75: 11-32.

- 8.** Dalle Zotte H., Réminon J., Ouhayoun. Effect of feed rationing during post-weaning growth on meat quality, muscle energy metabolism and fiber properties of *Biceps femoris* muscle in rabbit. *Meat Science*. 2005; 70: 301-306.
- 9.** Delmas D., Ouhayoun J. Technologie de l'abattage du lapin I. Etude descriptive de la musculature. *Viandes Prod. Carnés*. 1990; 11: 11-14.
- 10.** Geesink G. H., Mareko M.H. D., Morton J.D., Bickersteffe R.. Effects of stress and high voltage electrical stimulation on tenderness of lamb m. Longissimus. *Meat Science*. 2001;57: 265-271.
- 11.** Gunilla L., Pouli H., Anders H., Henrik J. Significance of early postmortem temperature and pH decline on color characteristics of pork loin different crossbreeds. *Meat Science*. 2006; 72: 613-623.
- 12.** Haddad B., Maertens L., Demeyer D., Uytterhaegen L. Evolution post mortem du muscle *Longissimus dorsi* et qualité de la viande de lapin en fonction du monde de refroidissement. In *Gémes Journées de Recherche Cunicole*. 1994; 2: 409-417.
- 13.** Huff-Lonergan Elisabeth, Steven M. Lonergan. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*. 2005; 71: 194-204.

- 14.** Hulot, F., Ouhayoun, J. Muscular pH and related traits in rabbits: A review. *World Rabbit Science*. 1999; 7(1):15-36.
- 15.** Hwang, I. H., Thompson, J. M. The interaction between pH and temperature decline early postmortem on the calpain system and objective tenderness in electrically stimulated beef *Longissimus dorsi* muscle. *Meat Science*. 2001; 58: 167-174.
- 16.** Hwang, I. H., Devine, C. E, Hopkins, D. L. The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Science*. 2003;65:677-691.
- 17.** King D.A., Voges K.L., Hale D.S., Waldron D.F., Taylor C.A., Savell J.W. High voltage electrical stimulation enhances muscle tenderness, increases aging response, and improves muscle color from cabrito carcasses. *Meat Science*. 2004; 68: 529-535.
- 18.** Klont, R. E., Barnier, V. M., Smulders, F.J., Van Dijk A., Hoving-Bolink, A. H., Eikelenboom, G. Post-mortem variation in pH, temperature, and color profiles of veal carcasses in relation to breed, blood hemoglobin content, and carcass characteristics. *Meat Science*. 1999; 53:195-202.
- 19.** Koohmaraie, M. Muscle proteinases and meat ageing. *Meat Science*. 1994; 36: 93-104.

- 20.** Koohmaraie, M. The role of endogenous proteases in meat tenderness. Recip. Meat Conference Proc. 1998; 41: 89-103.
- 21.** Koohmaraie Mohammad, Matthew P., Kent, Stevven D., Shackelford, Eva Veiseth, Tommy L. Wheeler. Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship?. Meat Science. 2002; 62: 345-352.
- 22.** Lambertini L., Lalatta Costerbosa G., Petrosino G., Zaghini G., Vignola G., Benassi M. C., Gatta P. P. Caractéristiques histochimiques du muscle et pH de la viande de lapins hybrides sacrifiés á differents áges. World Rabbit Science. 1996; 4: 171-179.
- 23.** Lambooij E., Pieterse C., Potgieter C. M., Snyman J. D., Nortjé G. L. Some neural and behavioral aspects of electrical and mechanical stunning in ostriches. Meat Science. 1999; 52: 339-345
- 24.** López, V. R, Casp, V. A. Colección Tecnología de Alimentos, Tecnología de Mataderos. ed. Mundi-Prensa. Madrid (España). 2004. Págs 35-37, 177-178, 342-343
- 25.** María G., López M., Lafuente R., Mocé M. L. Evaluation of electrical stunning methods using alternative frequencies in commercial rabbits. Meat Science. 2001; 57: 139-143.

- 26.** María G. A., Buil T., Liste G., Villarroel M., Sañudo C., Olleta J. L. Effects of transport time and season on aspects of rabbit meat quality. *Meat Science*. 2005. xx:xx-xx
- 27.** Murray, R., Granner, D., Mayes, P., Rodwell, V. *Bioquímica de Harper*. ed. Manual Moderno, México, (DF). 1997: 214-215.
- 28.** Niedzwiadek S., Bielanski P., Zajac J. Slaughter traits and meat quality in relation to genotype for 90 days old rabbits. *Memories In. Porc. 6th World Rabbit Congress*, Toulouse (France), 1996; 3: 213-216.
- 29.** Ouhayoun J., Poujardieu B. Effet des modes d'étourdissement et de réfrigération sur l'évolution de la longueur des sarcomères. 1990
- 30.** Ouhayoun J., Dalle Zotte Antonella. Muscular energy metabolism and related traits in rabbit. A review. *World Rabbit Science*. 1993; 1(3): 97-108.
- 31.** Ouali A. Meat tenderization: Possible causes and mechanisms. A review. *J. Muscle Foods*. 1990; 1: 129-165.
- 32.** Ouali A. Proteolytic and physicochemical mechanisms involved in meats texture development. *Biochemie*. 1992; 74: 251-265.

- 33.** Piles, M., Blasco, A., Pla M. The effect of selection for growth rate on carcass composition and meat characteristics of rabbits. *Meat Science*. 2000; 54: 347-355.
- 34.** Polidori, P., Lee, S., Kauffman, R.G., Marsh, B.B. Low voltage electrical stimulation of lamb carcasses: effects on meat quality. *Meat Science*. 1999;53: 179-182.
- 35.** Pösö, A. R., Puolanne, E. Carbohydrate metabolism in meat animals. *Meat Science*. 2005; 70: 423-434.
- 36.** Ramírez, J. A. Características bioquímicas del músculo, calidad de la carne y de la grasa de conejos seleccionados por velocidad de crecimiento. (tesis doctoral). Barcelona (España): Universidad Autónoma de Barcelona. Facultad de Veterinaria, Bellaterra. 2004.
- 37.** Roca, C.T. Programa Hens para una mejora. Universidad Autónoma de Chapingo. Dpto. Zootecnia. 1987: 8-9.
- 38.** Roncalés P., Geesink G. H., Van Laack R. L. J. M., Jaime I., Beltrán J.L., Barnier V. M. H., Smulders, F. J. M. Meat Tenderization. Enzymatic mechanisms. Expression of tissue proteinases and regulation of protein degradation as related to meat quality. A, Ouali, D.I., Demeyer F.J.M. Smulders, eds. ECCEAMST, Utrecht, The Netherlands. 1995: 311-332.

- 39.** SAS. 1996. SAS/STAT User's Guide SAS. (Release 6.12). Inst. Inc., Cary, NC.
- 40.** Savell, J. W., Mckeith, F. K., & Smith, G. C. Reducing post mortem aging time of beef with electrical stimulation. *Journal of Food Science*. 1981; 46: 1777-1781.
- 41.** Segundo, P. M. 900 mil toneladas se producen actualmente en el mundo. *Revista Conejos*. 2003; 4: 12-16.
- 42.** Terlow, Claudia. Stress reactions at slaughter and meat in pigs: genetic background and prior experience. A brief review of recent findings. *Livestock Production Science*. 2005; 94: 125-135
- 43.** Thompson, J. Managing meat tenderness. *Meat Science*. 2002; 62:295-308.
- 44.** Van der Wal, P.G., Engel, B., Reimert, H.G.M. The effect of stress, applied immediately before stunning, on pork quality. *Meat Science*. 1999; 53: 101-106.
- 45.** Warris, P. D. *Ciencia de la Carne*. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 2003.
- 46.** White, A., Sullivan, A., Troy, D., Neil, O. Effects of electrical stimulation, chilling temperature and hot-boning on the tenderness of bovine muscles. *Meat Science*. 2006; 73:196-203.

47. Zywnica R., Banach K. Analysis of changes in electric current intensity during high voltage electrical stimulation in the aspect of predicting the pH value of beef. *Journal of food engineering*. 2007; 81:560-565.