

RELACION ENTRE TRES TECNICAS ANALITICAS DIFERENTES PARA LA DETERMINACION DE GRASA INTRAMUSCULAR

Vicente, J. G., Isabel, B., Cordero, G., López Bote, C., Amazan, D. y Daza, A.
Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. Avda. Puerta de Hierro, s/n.
Ciudad Universitaria C.P 28040 - MADRID
jorgenaro@hotmail.com

INTRODUCCION

La grasa intramuscular o de veteado proporciona sapidez, aroma, sabor y jugosidad a la carne. En la bibliografía europea se ha indicado que para mantener los atributos de calidad de la carne de porcino debe contener, como mínimo, un 2% de grasa intramuscular (Bejerholm y Barton Gade, 1986). Sin embargo, este nivel puede variar en función de preferencias de mercado y del destino del producto. Valores entre 3 y 4% pueden ser más adecuados para carne destinada a curados (Coma y Piquer, 1999). No obstante, las costumbres gastronómicas y la tradición española en el procesado de la carne porcina parecen aconsejar el empleo de carnes de mayor contenido, aunque no está bien establecido. Se han realizado muchos trabajos para estudiar la posibilidad de modificar el contenido en grasa intramuscular actuando sobre la alimentación, con resultados poco satisfactorios. Sin embargo, la comparación de los datos obtenidos, en relación al contenido de grasa intramuscular, entre estudios diferentes, es complicada debido a que el análisis por métodos químicos de la grasa intramuscular presenta una variabilidad muy alta. El objetivo de este trabajo es comparar tres metodologías analíticas para la determinación de grasa intramuscular: el método propuesto por Folch et al. 1957 (F), la metodología descrita por Marmer y Maxwell. 1981 (MM), y el procedimiento One Step (OS), propuesto por Sukhija y Palmquist. 1988. Se trata de un trabajo preliminar que nos permita establecer relaciones, entre los resultados del contenido en grasa intramuscular, que se obtienen a partir de los tres métodos señalados.

MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 31 muestras de músculo *Longissimus dorsi* tomadas de 31 animales diferentes. Todas las muestras fueron liofilizadas y molidas previas a su análisis. Los métodos F y MM requieren de una extracción previa de la grasa, mientras que el método OS no la requiere, es decir, la extracción y la metilación de los ácidos grasos se hace de forma directa en un solo paso (Sukhija y Palmquist., 1988). A continuación se describen de forma breve la secuencia de cada método.

Se utilizó una modificación de la técnica de F se pesaron 700 mg de muestra en un matraz de bola grande, se añadió una punta de pipeta de sodio sulfato anhidro y se agregaron 21 ml de cloroformo, disolviendo en agitación durante 10 min. Posteriormente se agregaron 10 ml de metanol y se agitó durante 10 min; se filtró el contenido lavando el matraz dos veces con cloroformo y se transfirió a otro matraz de bola previamente tarado, se evaporaron los solventes en el rota vapor y se secó el matraz en estufa a 50°C durante 5 min. Se recuperó la grasa con 2 ml de solución cloroformo-metanol 1-2 y BHT 0,05%. Se extrajo el contenido.

A partir del procedimiento descrito por MM se utilizó una modificación consistente en pesar 700 mg de muestra liofilizada que se mezcló con sulfato sódico anhidro y tierra de diatomeas. La mezcla se empaquetó en una columna que contenía lana de vidrio, tierra de diatomeas y fosfato bicálcico en proporción 9:1. Seguidamente, se añadieron 20 ml de diclorometano para humedecer la columna. Después se añadieron 60 ml de diclorometano con los que se eluyeron los lípidos neutros que se recogieron en un matraz previamente tarado. Una vez eluída la fracción de los lípidos neutros se añadieron 60 ml de diclorometano/metanol en proporción 9:1 y se recogieron los lípidos polares en otro matraz

tarado. Las fases recogidas se evaporaron en el rotavapor a una temperatura inferior a 50 °C, se dejaron enfriar y se pesaron.

Para realizar la extracción y metilación directa que propone la técnica OS se pesaron 200 g de muestra en un tubo de centrifuga, se añadió 1 ml de tolueno con patrón interno (C15:0) y 1 ml de tolueno. Se Añadieron 3 ml de acetilo de cloruro al 5% en metanol, se agitó en un vortex y después se mantuvieron las muestras en un baño con agitación a 70 °C durante una hora. Una vez que las muestras estuvieron a temperatura ambiente se agregaron 5 ml de solución de carbonato potásico, se agitó en el vortex y se centrifugaron durante 5 min a 2500 rpm. Se recuperó el sobrenadante y se transfirió a otro tubo, se añadió 1 gr de sodio sulfato anhidro y se dejó en reposo durante una hora. Posteriormente se centrifugó y se recogió la parte superior en un vial para su inyección cromatográfica.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un estudio de comparación a través de la prueba T de Student. Además se realizó un análisis de regresión para determinar la relación entre variables utilizando el programa estadístico SAS (SAS, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido en grasa intramuscular de las muestras analizadas se expresa en porcentaje sobre Materia Seca (MS). Las medias obtenidas, su desviación típica y los resultados de la prueba "t" de Student pueden observarse en la Tabla nº1. La comparación entre los métodos One Step y Marmar y Maxwell resultó no significativa ($P>0,5$). Además para relacionar los resultados obtenidos por los diferentes métodos se realizó un análisis de regresión que se expone en la Tabla nº2.

La utilización del procedimiento directo One Step constituye una metodología válida y aporta ventajas respecto al tiempo necesario de análisis total de las muestras. El tiempo estimado para realizar 20 muestras por el procedimiento MM es de 3 días de trabajo, mientras que lo observado para el método F son de 2 días y el mencionado OS menos de 24 hrs. Es importante también tomar en cuenta que el método One Step permite la cuantificación en mg/g de los ácidos grasos que conforman a la grasa, necesita una menor cantidad de reactivos y produce menos residuos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bejerholm, C. y Barton Gade P.A. (1986). 32nd European Meeting of Meat Research Workers, 24-29 Aug. 1986. Proceedings II. Pp. 389-391.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G. H. (1957) J. Biol. Chem., 193. Pp 265-275.
- J. Coma y J. Piquer, *XV Curso de Especialización, Avances en Nutrición y Alimentación Animal*, FEDNA (1999). Pp 197-222.
- C.López Bote, G. Fructuoso y G.G. Mateos. (2000) XVI Curso de especialización FEDNA 2000, Pp 77-111.
- Madsen, A., Jakobsen, K. y Mortensen, H.P. (1992). A review. Acta Agric. Scand. 42. Pp 220-225.
- Marmar, W.N., Maxwell, R.J., (1981). Lipids 16. Pp 365-371.
- Statistical Analysis System Institute, (2004). In SAS user's guide. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sukhija, P.S., Palmquist, D.L., (1988). J. Agric. Food Chem. 36. Pp 1202.-1206.

Tabla 1. Contenido en grasa intramuscular (% MS) obtenido a partir de las tres metodologías utilizadas.

	¹ F	² MM	³ OS	Valor de ⁵ P		
				F vs MM	MM vs OS	OS vs F
Valor Medio	11,99	16,54	14,99	0,0001	0,08	0,0001
Desviación Típica	2,64	3,98	4,23			
⁴ n	31	31	31			

¹F=Folch; ²MM=Marmer y Maxwell; ³OS=One Step ⁴n=numero de muestras ⁵P=Probabilidad

Tabla 2. Ecuaciones de regresión entre valores de grasa intramuscular (% MS) obtenidos a partir de las tres metodologías

Relación entre variables	Ecuaciones de regresión	R ²	⁵ RSD	⁶ P<
F ¹ vs MM ²	$Y_{OS} = -1,67 + 0,99 X_{MM}$	0,81	1,90	0,00001
MM vs OS ³	$Y_F = 2,79 + 0,56 X_{MM}$	0,68	1,56	0,00001
F vs OS	$Y_{OS} = -3,88 + 1,55 X_F$	0,88	1,48	0,00001

¹F=Folch; ²MM=Marmer y Maxwell; ³OS=One Step; n=31; R²= Coeficiente de determinación; ⁵RSD= Desviación residual estándar; ⁶P= Probabilidad

Agradecimientos: Este estudio se ha realizado gracias al proyecto CICYT-AGL2007-63655 y la beca para estudios de doctorado otorgada por PROMEP, y la Universidad Veracruzana (Veracruz- México)

RELATIONSHIP AMONG THREE DIFFERENT METHODS FOR INTRAMUSCULAR FAT ANALYSIS FROM SWINE

ABSTRACT. The aim of this study was to compare three analytical technique for the determination of intramuscular fat in swine thirty one samples of *longissimus dorsi*, muscle samples was taken from 31 different animals were analyzed using the methods Folch et al. (1957) (F), the method described by Marmer and Maxwell (1981) (MM) and One Step (1988) (OS). No significant difference ($P < 0.08$) observed when comparing OS and MM. However significant differences ($P < 0.0001$) were detected OS methods and F, it is concluded that the OS is most suitable for the analysis of intramuscular fat, as a means of saving time, reagents and waste for the other two methods.

Keywords: Intramuscular Fat, Analytical Methods.