DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE α-TOCOFEROL EN CARNE DE CORDERO A PARTIR DE LA CONCENTRACIÓN DE α-TOCOFEROL EN PLASMA

Molino, F., Blanco, M., Ripoll, G., González-Calvo, L., Calvo, J. H. y Joy, M.
Unidad de Tecnología en Producción Animal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA), Avda. Montañana, 930, 50059 Zaragoza. *fmolino@aragon.es*.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años el mayor interés de la industria cárnica ha sido prolongar la vida útil de la carne, la cual está condicionada por los procesos oxidativos (Luciano *et al*., 2009). Uno de los antioxidantes más estudiados y utilizados como aditivos en las dietas de los animales es el grupo del tocoferol (Vitamina E). El α-tocoferol del músculo depende de la ingesta de α-tocoferol en la dieta (Turner *et al*., 2002) y del tipo músculo (Lee *et al*., 2006). Dado que el α-tocoferol es una vitamina liposoluble consideramos que tal vez, la cantidad de grasa intramuscular en el músculo podría afectar a la cantidad de α-tocoferol depositada en el músculo.

Para la industria podría resultar interesante conocer el contenido en α-tocoferol de la carne de manera rápida y no destructiva. Una posible manera sería relacionando la concentración de α-tocoferol en el plasma del cordero con la concentración de tocoferol en músculo. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es elaborar modelos que permitan estimar la cantidad de α-tocoferol existente en carne teniendo en cuenta la cantidad existente en plasma.

MATERIAL Y METODOS

Animales. En el ensayo se emplearon 62 corderos machos de raza Rasa Aragonesa (Peso vivo inicial = 14,1 ± 0,25 kg; edad inicial = 43 ± 0,8 d), de los cuales 54 fueron destetados y estabulados y 8 corderos pastaron continuamente con sus madres en una pradera de alfalfa. Durante el ensayo se utilizó un concentrado comercial control y este mismo concentrado enriquecido con 500 mg de DL-acetato de α-tocoferol/kg materia seca. Los corderos estabulados recibieron concentrado, paja y agua a libre disposición. Doce corderos estabulados, elegidos al azar, fueron alimentados durante todo el periodo de cebo con pienso concentrado comercial. El resto de los corderos estabulados fueron alimentados durante diferentes periodos (entre 4 y 42 días) previos al sacrificio con pienso enriquecido con acetato de α-tocoferol. Los 8 corderos que pastaron en la pradera de alfalfa dispusieron además del concentrado comercial control. Todos los corderos se sacrificaron cuando alcanzaron el peso vivo de 23 kg (± 1,38). El día de sacrificio, se tomaron muestras de sangre de la vena yugular. La sangre fue centrifugada y el plasma resultante se congeló a -80 ºC hasta su posterior análisis. Tras el oreo de la canal (24h a 4 ºC), los músculos *Semitendinosus* (*ST*) y *Longissimus dorsi* (*LD*) (10ª-12ª vértebra torácica) fueron extraídos para la determinación de la concentración α-tocoferol y el contenido en grasa intramuscular. Las muestras se liofilizaron y congelaron a -80 ºC hasta su análisis.

Alimentos. Se tomaron muestras semanales de los alimentos ofrecidos a los animales para conocer su composición química y el contenido en α-tocoferol (Tabla 1). Las muestras de pienso y alfalfa se congelaron a -80 ºC hasta su análisis.

Métodos de análisis: para la determinación de α-tocoferol en forraje se siguió la metodología descrita por Chauveau *et al*. (2010), para el resto de matrices el procedimiento fue el siguiente: 0,2 g de concentrado, 0,2 ml de plasma ó 0,1 g de carne se desproteinizaron con 0,4 ml de etanol. Los componentes lipofílicos fueron extraídos varias veces con hexano. La fase hexánica fue recogida para una posterior evaporación por centrifugación a vacío y el extracto resultante se reconstituyó con 500 µl de acetonitrilo–metanol–diclorometano (75–15–10). Finalmente, 40 µl fueron empleados para su determinación por HPLC-DAD (Agilent 1100, Karlsruhe, Alemania). Se empleó una columna 100×4,6 mm, RP C_{18}, 2,6-µm Kinetex®. La fase móvil fue acetonitrilo-metanol-diclorometano-acetato de amonio 0,05 M (75–10–10–5), a flujo isocrático de 1,5 ml/min y el tiempo de análisis por muestra fue de 5 minutos. La identificación de los compuestos se realizó por la comparación de los tiempos de retención (295 nm para el α-tocoferol y 290 nm para el acetato de α-tocoferol) y el análisis espectral de sus patrones. Para la determinación de la grasa intramuscular se picaron y liofilizaron los músculos LD y ST. Las muestras se pesaron antes y después de la liofilización para determinar el contenido en materia seca. Se realizó la determinación de la grasa

intramuscular siguiendo el procedimiento Ankom (AOCS Am 5-04) con un extractor Ankom (Modelo XT10, Ankom Technology, Madrid).
Los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico SAS (v9.3) Se calculó la concentración media, mínima y máxima de α-tocoferol en los alimentos (pienso control, pienso suplementado y alfalfa), el plasma y en los músculos (LD y ST) y la cantidad de grasa intramuscular (LD y ST). Se llevó a cabo un análisis de regresión múltiple step-wise para cada uno de los músculos estudiados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se observa que el contenido en α-tocoferol de los piensos es algo menor que el teórico y que la alfalfa tiene un contenido menor que el pienso testigo. En la Tabla 2 se muestra la descripción de la concentración de α-tocoferol en plasma, los dos músculos y la cantidad de grasa intramuscular de los dos músculos estudiados. En la Tabla 3 se muestran las correlaciones entre las concentraciones de α-tocoferol y el porcentaje de grasa intramuscular. El contenido en α-tocoferol de los dos músculos estuvo altamente correlacionado entre ellos mismos, así como con el contenido en α-tocoferol del plasma. La correlación entre el plasma y el α-tocoferol del LD fue algo más alta que con el α-tocoferol del ST. No hubo ninguna correlación significativa entre los porcentajes de grasa intramuscular con el α-tocoferol ni de músculo ni de plasma.
En la Tabla 4 se encuentran las ecuaciones de regresión obtenidas, siendo el modelo significativo ($P<0,001$) en todas. En la obtenida para la concentración de α-tocoferol del músculo LD, se incluye la concentración de α-tocoferol en plasma y la grasa intramuscular del músculo. Cuando únicamente se incluye la concentración de α-tocoferol en plasma, el coeficiente de determinación es superior a 0,60. Aunque no hubo una correlación significativa con el α-tocoferol en músculo, al incluir la grasa intramuscular en la regresión se mejora el coeficiente de determinación de la regresión en 0,03 y se reduce el error de la predicción un 3 %. Esto supone que para mejorar ligeramente la predicción de α-tocoferol en el LD, hay que realizar la determinación analítica de la grasa intramuscular, lo que a la vista de los resultados obtenidos no parece lo más conveniente.
En la regresión obtenida para la concentración de tocoferol en el músculo ST, sólo aparece la concentración de α-tocoferol en suero (Tabla 3). El coeficiente de determinación de la regresión fue inferior que cuando se utiliza el músculo LD. Sin embargo, el error cometido en la predicción es inferior, debido a la menor cantidad de α-tocoferol en el ST.
La diferencia en la predicción entre los dos músculos puede deberse a que el rango de valores de tocoferol y de grasa es mayor en LT que en ST, o podría deberse a la diferente distribución de tipos de fibras musculares en los músculos (las fibras del músculo *ST* poseen mayor capacidad oxidativa que las del *LD* (Totland y Kryvi, 1991)), por lo tanto, mayor capacidad para generar radicales libres y mayor empleo de antioxidantes para inactivarlos.
Finalmente, podríamos concluir que se podría estimar el contenido en α–tocoferol en músculo de una manera no destructiva, a partir de su concentración en plasma, lo que evitaría la devaluación de las canales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Chauveau-Duriot, B., Doreau, M., Nozière, P. y Graulet, B. 2010. Anal. Bioanal. Chem. 397(2): 777-90. • Lee, J. H., Waller, J. C., Melton, S. L., Saxton, A. M. 2006. J. Agric. Food Chem. 54: 568-573. • Luciano, G., Monahanc, F.J., Vasta, V., Pennisi, P., Bella M., Priolo, A. 2009. Meat Sci. 82, 2: 193–199. • Totland, G., Kryvi, H. 1991. Anatomy and Embr. 184: 441-450. • Turner, K. E., McClure, K. E., Weiss, W. P., Borton, R. J., Foster, J. G. 2002. Journal of Animal Sci. 80: 2513-2521.

Agradecimientos: Este estudio ha sido sufragado por los proyectos INIA-RTA2009-0091 y por el Grupo de Investigación Consolidado del Gobierno de Aragón (A-49).

Tabla 1. *Proteína, Fibra ácido detergente (FAD), fibra neutro-detergente (FND) y concentración de tocoferol en los alimentos (media ± error estándar)*

	Alfalfa	Pienso control	Pienso suplementado
Proteína bruta (%Materia seca)	15,4 ±1,4	17,5 ± 0,3	17,9 ± 0,4
FAD (%Materia seca)	20,4 ± 2,2	4,5 ± 0,3	5,2 ± 0,1
FND (%Materia seca)	32,6 ±2,6	17,9 ± 0,8	19,0 ± 1,0
α-tocoferol (μg g^{-1} materia seca)	11,5 ±1,6	27,0 ± 1,2	476,0 ±13,0

Tabla 2. *Concentración media, máxima y mínima de α-tocoferol en plasma y músculos y grasa intramuscular en los músculos*

	Media	Mínimo	Máximo	Rango
Concentración de α-tocoferol				
Plasma (μg ml^{-1})	1,88	0,16	5,41	5,25
Músculo (μg g^{-1} materia fresca)				
Longissimus dorsi	1,05	0,06	3,22	3,16
Semitendinosus	0,85	0,06	2,63	2,57
Grasa intramuscular (% materia fresca)				
Longissimus dorsi	1,74	0,74	4,70	3,96
Semitendinosus	1,65	0,87	2,81	1,94

Tabla 3. *Correlaciones entre las variables estudiadas*

	$Tocoferol_{ST}$	$Tocoferol_{plasma}$	GB_{LD}	GB_{ST}
$Tocoferol_{LD}$	$0,95^{***}$	$0,79^{***}$	$-0,20^{ns}$	$-0,19^{ns}$
$Tocoferol_{ST}$		$0,70^{***}$	$-0,22^{ns}$	$-0,17^{ns}$
$Tocoferol_{plasma}$			$-0,07^{ns}$	$-0,17^{ns}$
GB_{LD}				$0,59^{***}$

Tabla 4. *Ecuaciones de predicción de la concentración de tocoferol en músculo a partir del contenido en plasma*

	Paso				R^2	RMSE
$Tocoferol_{LD}$	(2)	= 0,18	+ 0,46 x $Tocoferol_{plasma}$		0,61	0,501
	(1)	= 0,52	+ 0,46 x $Tocoferol_{plasma}$	- 0,19 GB_{LD}	0,64	0,486
$Tocoferol_{ST}$	(1)	= 0,23	+ 0,33 x $Tocoferol_{plasma}$		0,50	0,461

LD: *Longissimus dorsi;* ST: *Semitendinosus;* GB: grasa intramuscular; RMSE: raíz cuadrada del error medio cuadrático

DETERMINATION OF α-TOCOPHEROL CONCENTRATION IN LAMB MEAT USING α-TOCOPHEROL CONCENTRACION IN PLASMA

ABSTRACT: The aim of this study was to estimate α-tocopherol content in lamb meat using α-tocopherol concentration in plasma. Sixty-two lambs were weaned and fed a control concentrate, a concentrate supplemented with acetate of tocopherol, alfalfa for different periods of time until slaughter. At slaughter, blood samples were collected to determine α-tocopherol concentration and after cooling for 24 h (4 ºC), *Longissimus* and *Semitendinosus* muscles were excised to determine α-tocopherol content and intramuscular fat content. According to the coefficient of determination, the equation to predict α-tocopherol content in *Longissimus* had better adjustment that in *Semitendinosus* muscle. Concentration of α-tocopherol in *Longissimus* muscle = 0,18 + 0,46 x α-tocopherol concentration in plasma (R^2= 0,61; RMSE=0,486) and Concentration of α-tocopherol in *Semitendinosus* muscle = 0,23 + 0,33 x α-tocopherol concentration in plasma (R^2=0,50; RMSE= 0,461).

Keywords: α-tocopherol, plasma, muscle, lamb.