

Efecto del tipo genético, de la selección por grasa intramuscular y de la localización anatómica del tejido, sobre la composición en aminoácidos de la carne

M. Tor ^{1a}, F. Vilaró ^b, R. Ros-Freixedes ^a, J. Reixach ^c, J. Estany ^a

^a Departament de Producció Animal, Universitat de Lleida, 191 Rovira Roure, 25198 Lleida

^b Serveis Científico-tècnics, Universitat de Lleida, 191 Rovira Roure, 25198 Lleida.

^c Selecció Batallé Avda Segadors, s/n, 17421 Riudarenes.

¹ Autor para correspondencia: mtor@prodan.udl.cat

RESUMEN

En el marco de un experimento de mejora genética porcina para el reparto de la grasa, se ha planteado estudiar el efecto del tipo genético, de un ciclo de selección por espesor de grasa subcutánea a grasa intramuscular constante y de la localización anatómica del tejido, sobre un perfil de aminoácidos que incluye la hidroxiprolina (HYP). El análisis de los aminoácidos se hace de forma simultánea mediante un sistema UPLC acoplado a un espectrómetro de masas. En general se observa un patrón de comportamiento distinto entre la HYP y el resto de los aminoácidos estudiados. Los tipos genéticos de la raza Duroc han presentado unos valores más altos en HYP que los cruces de cerdo blanco (LWxLD) o de ibérico (IBxD1). No se han detectado efectos de la selección sobre el contenido de HYP, en ninguno de los músculos estudiados. En cambio, los animales seleccionados presentan un mayor contenido de algunos aminoácidos esenciales (leucina, isoleucina y fenilalanina). La diferencias encontradas en el contenido de HYP y en otros aminoácidos (prolina, leucina y metionina), entre los músculos *m. glutaeous medius* y *m. longissimus dorsi*, indican que la situación del tejido es un factor relevante en la composición. Se ha encontrado una correlación entre la proporción de HYP y el ácido araquidónico (-0.18; $p < 0,05$) que sugiere una relación inversa entre las proteínas y los lípidos estructurales.

Palabras clave: aminoácidos, hidroxiprolina, porcino, UPLC.

Introducción

La dureza de la carne es una característica que tiene diversas facetas y no puede ser abordada en términos generales. En primer lugar hay que concretar si se trata del producto en crudo o se trata de carne cocinada. La cocción modifica los valores de la dureza de la carne y lo hace de forma selectiva, según sean sus causas (Lepetit et al 2005). La dureza de la carne cruda, por tanto, puede no ser un buen predictor de la dureza de la carne cocinada. En la carne cruda, existen amplias evidencias de que el tejido conectivo contribuye de forma relevante a su dureza. Especialmente el perimio muscular y en concreto su grosor. En *m. semitendineus* de cerdo se ha determinado una correlación de 0,98 entre el grosor del perimio y la fuerza de resistencia al corte del músculo (Fang et al.1999). La determinación del grosor del perimio, es una medida de la estructura del músculo, que se realiza mediante técnicas histológicas y puede ser un factor limitante para ser utilizado en condiciones de producción. Como alternativa, teniendo en cuenta que el contenido de colágeno del perimio es muy alto 95,3% frente al 22,2% y 42,4% del epimio y del endomio respectivamente (Light and Champion, 1984), el contenido en hidroxiprolina (HYP) se revela como una buena medida indirecta

del mismo. Aunque el aminoácido más ampliamente estudiado respecto a la textura de la carne es la HYP, también se han descrito correlaciones de la misma con otros aminoácidos. Osborne (1968) encuentra una relación positiva de los contenidos de ácido glutámico, leucina, serina y fenilalanina con la terneza de la carne cruda ($r=0.44$, 0.56 , 0.50 y 0.51 respectivamente). Por otro lado, es conocido que la textura de la carne también puede verse afectada por las características de la grasa. Suzuki et al. (2006) encuentra una correlación positiva entre la terneza de la carne de cerdo de la raza Duroc y el contenido de ácido linoleico de la grasa intramuscular. Y además, existen indicios de que la grasa intramuscular y el perfil de aminoácidos libres de la carne, pueden no ser totalmente independiente. En este sentido Osborne (1968) encuentra, en carne de cerdo, una correlación negativa ($r=-0.46$) entre el contenido de lisina y el veteadado de la carne.

Por estas razones, en el marco de un experimento de mejora genética porcina del reparto de la grasa, se ha planteado estudiar el efecto del tipo genético, de un ciclo de selección y de la localización anatómica del tejido, sobre un perfil de aminoácidos que incluya la HYP. El objetivo es comprobar si tipos genéticos distintos, con características de la grasa distintas, tienen también perfiles de aminoácidos de la carne distintos y detectar así posibles efectos inesperados de la mejora en el reparto del tejido adiposo sobre las características de la carne.

Material y métodos

Diseño experimental y animales. Los animales utilizados provienen de dos experimentos. En el primer ensayo se utilizaron 116 cerdos castrados de cuatro genotipos distintos: un cruce de Landrace por Large White (LD x LW), una línea pura Duroc (D1), un cruce de dos líneas puras Duroc (D1xD2) y un cruce de Duroc por Ibérico (D1xIB). Estos animales fueron criados en condiciones comerciales hasta los 200 días de vida. En el segundo ensayo se utilizaron 50 animales del genotipo D1, procedentes de un experimento de selección, distribuidos en un grupo seleccionado (S) y un grupo control (C). Los animales del grupo S fueron seleccionados contra espesor de grasa dorsal a contenido de grasa intramuscular constante. El grupo control fue tomado aleatoriamente entre los animales de la población. Las diferencias en espesor de grasa dorsal a los 210 días de vida (S-C) fueron de 1,3 mm sin diferencias en el contenido de GIM (Reixach et al., 2009). Todos los procedimientos experimentales de los experimentos fueron aprobados por el Comité de Experimentación Animal de la Universitat de Lleida.

Metodología analítica. El sacrificio de los animales se realizó en un matadero comercial. A las 24 horas *post-mortem* se procedió al despiece comercial de las canales, tomándose en ese momento las muestras de los músculos *glutaeus medius* y *m. longissimus dorsi*, que se conservaron congeladas hasta el momento de su procesado. Una vez liofilizadas las muestras se desgrasaron mediante un sistema de extracción soxhlet con éter de petróleo, se pulverizaron y se homogeneizaron. Se realizó la hidrólisis de una alícuota de 50 mg en 5 mL de ácido clorhídrico 6M durante 12 horas a 110°C. Posteriormente se centrifugó el hidrolizado a 3000 xg durante 30'. A partir de este paso, se realizaron los análisis por duplicado. Se evaporó 1 mL de la muestra hidrolizada mediante un sistema de centrifugación y vacío Speed-Vac (Thermo, Waltham, USA). La muestra se rediluyó en 1 mL de fase (acetoniitrilo/agua 90/10 v/v; 0,5mM acetato amónico a pH 5,5), utilizando como patrón interno Trans-4-Hydroxy-L-

proline-2,5,5-d₃ (CDN Isotopes, Sainte Foy La Grande, France) a una concentración de 6,5 µg/mL. El análisis cromatográfico se realizó mediante un equipo UPLC Aquity, con bomba binaria, acoplado a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo TDQ (Waters, Millford, MA, USA) y equipado con una columna Acquity UPLC BEH Amide 1,7µm de 2.1×150mm. Como fase móvil se utilizó un gradiente simultáneo de ACN/agua y de acetato amónico a pH 5,5. Las condiciones del espectrómetro de masas fueron; voltaje del capilar: 1,5kV; Voltaje de cono20V; Voltaje del extractor: 3V; Temperatura de la fuente: 150°C; Temperatura de desolvatación: 35°C; Flujo de gas de desolvatación: 800L/h; Flujo de gas de cono 10L/h. Las transiciones MRM (Q1/Q3) utilizadas para la cuantificación fueron: ILE, 132/69,1; LEU 132,1/30,0; MET 150,3/104,1; VAL 118,2/72,2; PRO 116/70; PHE 116/120; HPRO132/86; HPRO^{d3} 135/89. La cuantificación de cada aminoácido se realizó mediante sendas rectas patrón de 4 a 40 µg/mL. Las diferencias estadísticas de las medias entre genotipos se determinaron mediante el test de Tukey. Las diferencias de las medias entre grupos de selección y músculos se determinó mediante un test t. Todos los análisis se realizaron mediante el programa JMP Versión 8.0.2 (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

Resultados

En la Tabla 1 se describen las diferencias entre los cuatro tipos genéticos en el perfil de aminoácidos estudiado. Los valores obtenidos, entran dentro del rango normal de variabilidad que presenta la bibliografía. Quizás sea especialmente destacable, por un lado, la similitud de los niveles de valina con la descrita en otros trabajos (Usborne et al, 1968; Jiang et. al; 2011) y por otro, los bajos niveles de leucina, especialmente si se comparan con este último. En cuanto a las diferencias entre los tipos genéticos, únicamente se han encontrado para la HYP. Los tipos genéticos de la raza Duroc presentan los valores más altos y el cruce de cerdo blanco LWxLD los valores más bajos. Es de destacar que los niveles de HYP del cruce IBxD1 no difieran de los de cerdo blanco. Este resultado sugiere que, el patrón de comportamiento similar de las razas Duroc e Ibérico, en cuanto al contenido y composición de la grasa intramuscular (ambas tienen más grasa intramuscular y más insaturada que el cerdo blanco; Reixach et al 2008), no se repite con la proteína que forma parte del tejido conectivo. Tanto el contenido de HYP como su ratio con el resto de aminoácidos, sugieren que la raza Duroc tiene más cantidad de colágeno, tanto en términos absolutos como en términos relativos. Sin embargo será necesario comprobar el impacto que esto tiene sobre las características de la carne, tanto en crudo como curada o cocinada, puesto que la ternura no solo depende de la cantidad de colágeno sino de su estructura y de las modificaciones post-mortem. En cuanto al efecto de un ciclo de selección para modificar el reparto de la grasa (Tabla 2), no hay efectos sobre el contenido de HYP, en ninguno de los dos músculos estudiados. Se han detectado en cambio, en el músculo *glutaeous medius*, diferencias en los aminoácidos PRO, LEU, ILE y PHE entre los grupos S y control. Todos en el mismo sentido, lo que sugiere un mayor contenido de proteína muscular en el grupo S.

Tabla 1. Comparación del contenido de aminoácidos en el musculo *glutaeous medius* entre tipos genéticos (n = 29 por tipo genético).

Aminoácido ²	Tipo genético ¹				SEM
	LW×LD	D1	D1×D2	IB×D1	
HYP	2.73 ^c	3.40 ^a	3.31 ^{ab}	2.84 ^{bc}	0.14
PRO	19.17	17.24	18.25	17.30	0.53
LEU	34.73	33.28	33.71	33.81	0.65
ILE	26.42	24.89	25.69	25.46	0.60
MET	24.05	23.44	23.82	24.04	0.62
VAL	36.90	34.39	35.19	35.43	0.84
PHE	22.17	20.64	21.14	21.26	0.51
HYP/AL	0.0167	0.0222	0.0211 ^a	0.0183 ^b	0.0009
HYP/PR	0.1457	0.1992	0.1843 ^a	0.1665 ^b	0.0083
HYP/LE	0.0786	0.1032	0.0991 ^a	0.0850 ^b	0.0043
HYP/ME	0.1125	0.1455	0.1398 ^a	0.1204 ^b	0.0053

a, b, c Las medias con superíndice distinto presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

¹ LW×LD: cruce Large White × Landrace; D1: Duroc línea pura 1; D1×D2: cruce Duroc; IB×D1: cruce Ibérico × Duroc. La línea Duroc D1 es la misma en los tres tipos genéticos.

² µg/mg de carne desgrasada y liofilizada.

Analizando el perfil de aminoácidos según la localización anatómica del tejido, *m. glutaeous medius* vs. *m. longissimus dorsi*, se llega a la conclusión que la situación del tejido es relevante, tanto para la HYP como para algunos aminoácidos esenciales (PRO, LEU y MET). El músculo *glutaeous medius* tiene un mayor contenido de HYP, en términos absolutos y también respecto al total de aminoácidos analizados, probablemente reflejo de una mayor presencia de tejido conectivo.

Se han estudiado las correlaciones entre los aminoácidos, en los dos músculos que se consideran en el estudio. Se observa un patrón claro de correlaciones altas y significativas entre ellos (r entre 0,5 y 0,9), exceptuando el caso de la HYP cuyo coeficiente de correlación con PRO, LEU, ILE, MET, VAL y PHE es de 0.14*, 0.15*, 0.24***, 0.40***, 0.29*** y 0.20** respectivamente ($P > 0.1$; *: $P \leq 0.1$; **: $P \leq 0.05$; ***: $P \leq 0.01$). Esto sugiere que el contenido de proteína total del músculo es relativamente independiente del contenido de HYP y por tanto de tejido conectivo. Se han estudiado también las correlaciones de los aminoácidos con el contenido y composición de la grasa.

Tabla 2. Comparación del contenido en aminoácidos en los músculos *glutaeous medius* y *longissimus dorsi* entre los grupos seleccionado (S) y control (C).

Amino- ácido ²	<i>m. glutaeous medius</i>			<i>m. longissimus dorsi</i>		
	Grupo ¹		SEM	Grupo ¹		SEM
	S (n=27)	C (n=23)		S (n=25)	C (n=25)	
HYP	3.27	2.92	0.17	2.64	2.75	0.11
PRO	23.44 _a	21.60 ^b	0.57	19.57	19.72	0.81
LEU	38.18 _a	36.00 ^b	0.56	34.70	35.15	0.67
ILE	28.48 _a	26.82 ^b	0.53	26.39	26.70	0.65
MET	23.10	22.44	0.89	24.01	25.39	0.73
VAL	37.34	35.43	1.00	36.55	38.10	1.12
PHE	24.29 _a	22.63 ^b	0.49	22.08	22.46	0.58
HYP/AL	0.018	0.017	0.000	0.016	0.016	0.000
L	6	8	9	3	5	7
HYP/PR	0.140	0.137	0.007	0.137	0.143	0.006
O	0	2	7	8	9	8
HYP/LE	0.085	0.081	0.004	0.076	0.078	0.003
U	3	3	3	3	5	1
HYP/ME	0.142	0.132	0.006	0.111	0.109	0.004
T	0	0	4	4	3	5

^{a, b} Las medias con superíndice distinto presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

¹ Los cerdos del grupo S fueron seleccionados contra grasa dorsal a grasa intramuscular constante. ² $\mu\text{g}/\text{mg}$ de carne desgrasada y liofilizada.

Es de señalar que no se ha encontrado correlación significativa, entre el tejido subcutáneo o la grasa intramuscular medido en la canal con la HYP. Este hecho explicaría que después de un ciclo de selección, el contenido de HYP no se haya modificado. De manera que si existe un efecto de la grasa intramuscular sobre la textura de la carne (Suzuki 2006), la hipótesis más plausible es que sea debida a la propia presencia de la grasa o a cambios asociados en la composición de la misma. Por el contrario si se ha encontrado una correlación entre la ratio HYP/ALL y el ácido araquidónico (-0.18; $p < 0.05$), consistente en cada músculo y que sugiere una relación inversa entre las proteínas y los lípidos estructurales.

Tabla 3. Comparación del contenido en aminoácidos en los músculos *glutaeous medius* y *longissimus dorsi* (n = 50 por músculo), y coeficiente de correlación de Pearson (r) entre medidas en ambos músculos.

Aminoácido ²	Músculo ¹			r ³
	GM	LD	SEM	
HYP	3.11 ^a	2.70 ^b	0.10	0.19 ^{ns}
PRO	22.50 ^a	19.71 ^b	0.59	-0.35**
LEU	37.12 ^a	34.96 ^b	0.48	-0.12 ^{ns}
ILE	27.64	26.55	0.45	-0.11 ^{ns}
MET	22.78 ^b	24.62 ^a	0.59	-0.02 ^{ns}
VAL	36.36	37.32	0.81	-0.11 ^{ns}
PHE	23.46	22.27	0.42	-0.14 ^{ns}
HYP/ALL	0.0182 ^a	0.0164 ^b	0.0005	0.19 ^{ns}
HYP/PRO	0.1387	0.1409	0.0050	0.06 ^{ns}
HYP/LEU	0.0835	0.0774	0.0025	0.19 ^{ns}
HYP/MET	0.1374 ^a	0.1104 ^b	0.0038	0.27*

^{a, b} Las medias con superíndice distinto presentan diferencias significativas ($P \leq 0.05$). ¹ GM: *m. glutaeous medius*; LD: *m. longissimus dorsi*. ² µg/mg de carne desgrasada y liofilizada. ³ ns: $P > 0.1$; *: $P \leq 0.1$; **: $P \leq 0.05$; ***: $P \leq 0.01$.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos AGL2006-01243 y AGL2009-09779. R. Ros-Freixedes es beneficiario de una beca FPI (BES-2010-034607).

Referencias

- Bosch L, Tor M, Reixach J y Estany J, 2009. Estimating intramuscular fat content and fatty acid composition in live and post-mortem samples in pigs. *Meat Science*, 82, 432-437.
- Fang SH, Nishimura T y Takahashi K, 1999. Relationship between development of intramuscular connective tissue and toughness of pork during growth of pigs. *Journal Of Animal Science* 77, 1, 120-130.
- Jiang YZ, Zhu L, Li XW, Si T, 2011. Evaluation of the Chinese indigenous pig breed Dahe and crossbred Dawu for growth and carcass characteristics, organ weight, meat quality and intramuscular fatty acid and amino acid composition. *Animal*, 51485-1492
- Lepetit J, 2008. Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science*, 80, 960-967.
- Reixach J, Tor M y Estany E, 2009. Respuesta a la selección contra grasa dorsal a grasa intramuscular constante en cerdos Duroc. AIDA, XIII Jornadas sobre Producción Animal, Tomo I, 120-122.
- Suzuki K, Ishida M, Kadowaki H, Shibata T, Uchida H y Nishida A, 2006. Genetic correlations among fatty acid compositions in different sites of fat tissues, meat production, and meat quality traits in Duroc pigs. *Journal Of Animal Science* 84, 2026-2034.
- Osborne Wr, Kemp J y Moody Wg. 1968. Relation of protein components and free amino acids to pork quality. *Journal of Animal Science*, 27, 590-595.