

Comunicado Técnico

ISSN 1517-4786
Outubro, 2010
São Carlos, SP

Foto: Manoela Campos



Uso da RMN de ^1H em alta resolução para análise da razão água/gordura na carne bovina

Lucimara Aparecida Forato¹
Fayene Zeferino Ribeiro²
Cátia Crispilho Correa³
Lucinéia Vizzotto Marconcini⁴
Rymer Ramiz Tullio⁵
Geraldo Maria da Cruz⁶
Luiz Alberto Colnago⁷

O conteúdo de gordura na carne bovina é em torno de 2,5%, e no caso do músculo bovino, *L.dorsi* (lombar) a gordura intramuscular, que é a gordura entremeada e é responsável por vários aspectos sensoriais, está em torno de 0,56% (LAWRIE, 2005). Os métodos tradicionais para se estimar o conteúdo de gordura na carne envolvem a extração com solventes que são considerados demorados e nocivos à saúde do operador da análise, devido ao manuseio de produtos tóxicos. Assim a RMN pode ser uma alternativa a tais métodos, visto que pode dar informação sobre o conteúdo de gordura da carne, sem destruir a amostra e sem uso de solventes (LEFFLER et. al., 2008).

Renou et. al. (1987) utilizaram a RMN de ^1H para avaliar a razão água/gordura em amostras de carne bovina com sucesso. No entanto, após este trabalho praticamente não houve publicações da aplicação da técnica. Mystokowski et. al. (2000) e Taicher et. al. (2003), respectivamente, aplicaram a técnica com sucesso em corpos de ratos inteiros. Shintu et. al. (2007) usaram uma evolução da técnica de ^1H em alta resolução que é conhecida como HR-MAS e necessita de sondas específicas para realização de análises. A técnica permite girar a amostra em alta velocidade, 4000 Hz, fornecendo assim espectros com linhas finais e consequentemente melhor resolução dos vários sinais da amostra. No caso da carne, com as sondas convencionais são observados somente os sinais predominantes da água e gordura. Com a técnica de HR-MAS os autores observaram em amostras secas de carne, além da gordura, metabólitos e aminoácidos.

Nielsen et. al. (2005) ao invés de utilizarem a RMN em alta resolução correlacionaram os sinais de CPMG (Car-Purcell-Meiboom-Gill) para amostras de filé de salmão com o teor de gordura e obtiveram bons resultados. Leffler et. al. (2008) analisaram vários produtos derivados da carne secos com CPMG e também obtiveram alta correlação com o teor de gordura.

Recentemente Correa et. al. (2009) publicaram um trabalho onde foram analisadas 20 amostras de contra-filé de carne bovina. Os autores analisaram a correlação do conteúdo de gordura extraído com solvente com T_2 obtido por CPMG e com a razão M_z/M_0 obtida pela técnica de CWFP (Continuous Wave Free Precession – Precessão Livre de Onda Contínua). Os autores encontram alta correlação desta última com o teor de gordura e baixa correlação com CPMG.

Ballerini et. al. (2002) analisaram o conteúdo de gordura em carne pela técnica de imagem por ressonância magnética (IRM). Os autores realizaram um estudo preliminar, onde obtiveram imagens de oito amostras de *longissimus dorsi* num ímã de 2,35T. Os autores utilizaram um tempo de eco (TE) de 19,5 ms e um tempo de repetição de 345 ms. As imagens foram processadas e, por meio de análises por histogramas, foram separados sinais contendo pixels considerados representativos da amostra de carne ou não. Assim os pontos considerados não representativos foram suprimidos do sinal, por meio dessas análises os autores propuseram um algoritmo de segmentação de sinal. Os resultados de IRM foram então correlacionados com análises convencionais de extração da gordura por solvente. Foi obtida uma ótima correlação, $r=0,77$.

Barra e Boire (2002), usaram a mesma abordagem de Ballerini et. al. (2002), para analisar a gordura no músculo de humanos em 11 onze adultos jovens saudáveis. Os autores conseguiram boa concordância entre os resultados da IRM e um método clássico, validado.

Neste trabalho serão apresentados os resultados referentes à análise da carne bovina pela RMN de ^1H em alta resolução quando comparados com os conteúdos de gordura, obtidos pelo extrato etéreo.

¹Química, D. Sc., pesquisadora, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, Centro, São Carlos, lucimara@cnpdia.embrapa.br

²Química, M.Sc., Universidade Estadual de São Paulo, Avenida Trabalhador São-Carlense, 400, São Carlos, faylettalfay@yahoo.com.br

³Química, M.Sc., Universidade Estadual de São Paulo, Avenida Trabalhador São-Carlense, 400, São Carlos, catiacorrea@gmail.com

⁴Química, D. Sc., bolsista de Pós-doutorado, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, Centro, São Carlos, lu_vizzotto@yahoo.com.br

⁵Engenharia Agrônoma, D.Sc., Pesquisador, Embrapa Pecuária Sudeste. Rodovia Washington Luiz, Km 234, São Carlos, rymer@cppse.embrapa.br

⁶Engenharia Agrônoma, D.Sc., Pesquisador, aposentado da Embrapa Pecuária Sudeste. Rodovia Washington Luiz, Km 234, São Carlos, geraldomariada.cruz8@gmail.com

⁷Farmácia, D.Sc., pesquisador, Embrapa Instrumentação, Rua XV de Novembro, 1452, Centro, São Carlos, colnago@cnpdia.embrapa.br

Analisou-se amostras de carne da região do contrafilé do tipo músculo – *longissimus dorsi*. A região da 12^a costela é o padrão americano e da 6^a costela é uma tentativa de se obter um método brasileiro, uma vez que a última localiza-se no início da peça, não havendo necessidade de se cortar a peça ao meio, como é o caso da localização da 12^a costela (método americano).

Os bovinos abatidos foram provenientes de filhos ou filhas de fêmeas cruzadas, Angus X Nelore (TA) e Simental X Nelore (TS), acasaladas com touros das raças Angus (AX), Bonsmara (BX) e Canchim (CX), esses cruzamentos confinamento e o abate foram conduzidos pela Embrapa pecuária Sudeste, São Carlos, SP. O cruzamento de fêmeas TA ou TS com touro da raça Canchim (CX) produz bezerros com cerca de ½ Europeu + ½ Zebu; com touro da raça Angus (AX) produz bezerros com cerca de ¾ Europeu + ¼ Zebu e com touro da raça Bonsmara (BX) produz bezerros ¾ *Bos taurus* e ½ adaptado (o grupo Sanga, *Bos taurus* adaptado) (4,25).

Os cruzamentos entre os pais, as mães e o sexo dos animais mencionados na tabela 1 resultaram nos grupos genéticos a seguir, sendo o total de animais de cada grupo indicado entre parênteses: AXTAF (10), AXTAM (11), AXTSF (4), AXTSM (10), BXTAF (9), BXTAM (11), BXTSF (8), BXTSM (8), CXTAF (9), CXTAM (6), CXTSF (3) e CXTSM (10). Totalizando, portanto, 99 animais. Os animais foram abatidos quando a espessura de gordura na altura da 12^a costela em torno de 3mm medido por ultrassonografia. Os animais foram abatidos por concussão cerebral seguida de secção da jugular. Foram abatidos animais com idade entre 12 e 14 meses, distribuídos em quatro dias de abates distintos.

Análise das razões água/gordura pela RMN de ¹H

Os espectros de RMN de ¹H foram obtidos num espectrômetro Varian INOVA 400, campo de 9,3T, usando um tempo de aquisição de 0,5 s; tempo de espera de 2s e largura de pulso de 90 graus de 10 s. A sonda (probe) utilizada foi uma sonda para líquidos de 10mm. As amostras de carne (cerca de 8mm de diâmetro) foram colocadas em tubos para RMN de 10mm. Para se avaliar a razão água/gordura nas amostras foram calculadas as integrais dos sinais na região de 4,7ppm e 1,1ppm sendo atribuídos aos hidrogênios da água e grupos metilênicos da fração gordurosa da carne, respectivamente.

Determinação do conteúdo de gordura intramuscular

A gordura intramuscular (IMF do inglês: “intramuscular fat”) foi extraída utilizando um sistema de extração Soxhlet e hexano como solvente. Foi pesada aproximadamente 1g de cada amostra liofilizada em um papel de filtro com peso conhecido, sendo em seguida colocada no extrator onde permaneceu em refluxo por mais de 18 horas. Em seguida, as amostras foram levadas para estufa a uma temperatura em torno de 60°C para a evaporação do solvente. Depois de secas, as amostras ainda envoltas em papel foram pesadas. Subtraindo-se a massa conhecida do papel, o valor da massa da amostra foi determinado. A percentagem de gordura foi obtida utilizando o valor encontrado em relação a massa de amostra fresca.

Na Figura 1 são apresentados os espectros de ¹H obtidos

para pedaços de carne de amostras BXTS, BXTA, CXTS e CXTA do sexo feminino. Pode-se observar o sinal largo e intenso em 4,7ppm proveniente dos hidrogênios da água na carne e o sinal de menor intensidade na região de 1,1 ppm que é devido aos hidrogênios dos grupos metilênicos da gordura da carne. Por meio da análise das 198 amostras, obteve-se então a razão da proporção água/gordura para todas as amostras, utilizando-se para isso a razão entre as áreas dos sinais em 4,7 e 1,1ppm

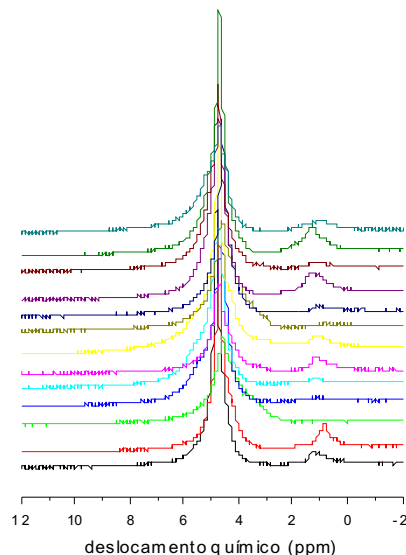


Figura 1: Espectros de RMN de ¹H para amostras da 6^a e 12^a costelas de contrafilé bovino.

Na Figura 2, foram analisadas as médias das razões água/gordura obtidas por RMN de ¹H para as 198 por dia de abate e as amostras foram divididas como C12 e C6, provenientes da 12 e 6^a costela respectivamente. Desta forma temos dois pontos por dia de abate. A correlação indica um valor de R negativo (-0,78), o que indica que quanto maior a razão água/gordura medida por RMN, menor será o conteúdo de gordura intramuscular na amostra. Considerando-se ainda a baixa dispersão de valores devido a trabalharmos com animais de mesma idade e manejo, a correlação obtida entre os resultados de RMN e os de extração são bastante satisfatórios. No entanto, nessa análise avaliou-se tanto as amostras obtidas de C12 quanto C6. Na Figuras 3 são apresentados o mesmo tipo de análise da Figura 2, com separação das amostras C12 e C6.

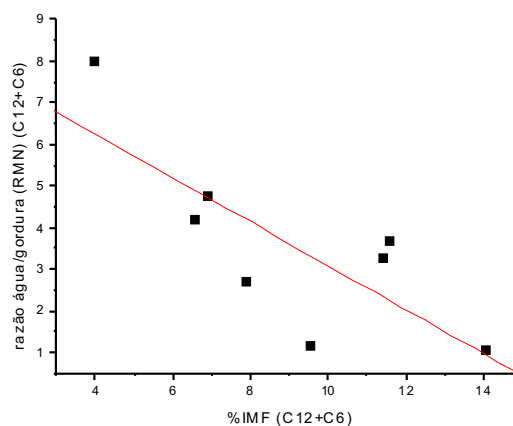


Figura 2: Gráfico da razão água/gordura obtida pela RMN de ¹H em função da % IMF das mesmas amostras, obtidas de C12 e C6. R= -0,78.

A correlação obtida dos dados de RMN com extrato etéreo para amostras somente da C12, foi de R = -0,99., figura 3. Já para as amostras C6, a correlação não foi satisfatória, R = -0,47.

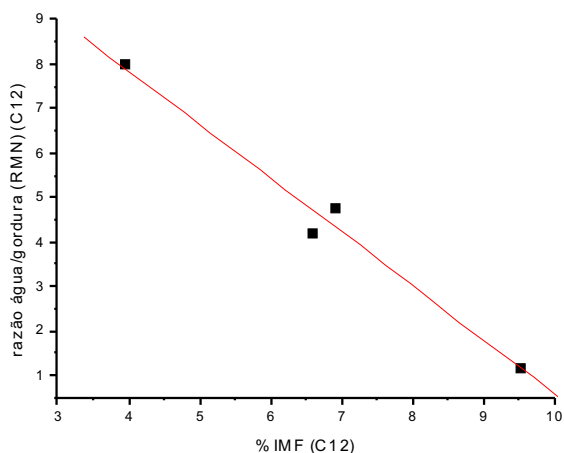


Figura 3: Gráfico da razão água/gordura obtida pela RMN de ¹H em função da % IMF das mesmas amostras obtidas da C12, R = -0,99.

Concluiu-se assim que a RMN em alta resolução apresentou boa correlação de razão/água gordura com a % de IMF obtida por extração com solvente. A primeira tem a vantagem de ser uma técnica não destrutiva podendo-se utilizar a mesma amostra para outras análises. Concluiu-se também que a correlação obtida entre os dados de RMN e a porcentagem de %IMF foi excelente para as amostras obtidas segundo o método americano, C12, indicando que quanto ao conteúdo de IMF é até o momento o corte mais indicado para tal avaliação.

Referências

BALLERINI, L.; BYLUND, A. C.; LINDGARD, A.; RAKOTONIRAINY, O.; SOUSSI, B. A Segmentation Technique to Determine Fat Content in NMR Images of Beef Meat. **IEEE Transactions on Nuclear Magnetic Resonance**, [S. l.], v. 49, n. 1, 2002.

BARRA, V.; BOIRE, J. Y. Segmentation of fat and muscle from MR images of the thigh by a possibilistic clustering algorithm. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, Amsterdam, v. 68, p. 185-193, 2002.

CORREA, C. C.; FORATO, L. A.; COLNAGO, L. A. High-throughput non-destructive nuclear magnetic resonance method to measure intramuscular fat content in beef. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 393, p. 1357-1360, 2009.

LAWRIE, R. A. **Ciência da Carne**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 256-260.

LEFFLER, T. P.; MOSER, C. R.; MCMANUS, J.; URH, J. J. Determination of Moisture and Fat in Meats by Microwave and Nuclear Magnetic Resonance Analysis: Collaborative Study. **Journal of AOAC International**, Arlington, v. 91, n. 4, p. 802-810, 2008.

MYTSKOWSKI, P.; SHANKLAND, E.; SCHREYER, S. A.; LEBOUF, R. C.; SCHWARTZ, R. S.; CUMMING, D. E.; KUSHMERICK, M.; SCHWARTZ, M. W. Validation of whole-body magnetic resonance spectroscopy as a tool to asses murine body composition. **International Journal of Obesity**, London, v. 24, n. 6, p. 719-724, 2000.

NIELSEN, D.; HYLDIG, G.; NIELSEN, J.; NIELSEN, H. H. Lipid content in herring (*Clupea harengus* L.) – influence of biological factors and comparison of different methods of analyses: solvent extraction, Fatmeter, NIR and NMR. **LWT – food science and technology**, [S. l.], v. 38, p. 537-548, 2005.

RENOU, J. P.; BRIGUET, A.; GATTELLIER, P.; KOPP, J. Determination of fat and water ratios in meat products by high-resolution NMR at 19,6 MHz. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 22, n. 2, p. 169-172, 1987.

SHINTU, L.; CALDARELLI, S.; FRANKE, B. M. pre-selection of potential molecular markers for the geographic origin of dried beef by HR-MAS NMR spectroscopy. **Meat Science**, Barking, v. 76, p. 700-707, 2007.

TAICHER, G. Z.; TINSLEY, F. C.; REIDERMAN, A.; HEIMAN, M. Quantitative magnetic resonance (QMR) method for boné and whole-body-composition analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 377, p. 990-1002, 2003.

Comunicado Técnico, 110

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Instrumentação
 Rua XV de Novembro, 1452 - Caixa Postal 741
 CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: 16 2107 2800 - **Fax:** 16 2107 2902
e-mail: sac@cnpdia.embrapa.br
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
1a. edição
 1a. impressão 2010: tiragem 300



Comitê de Publicações

Presidente: João de Mendonça Naimé
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,
 Sandra Protter Gouvea
 Washington Luiz de Barros Melo
 Valéria de Fátima Cardoso

Membro Suplente: Dr. Paulo S. P. Herrmann Junior

Expediente

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento das ilustrações: Camila Fernanda Borges
Editoração eletrônica: Camila Fernanda Borges