

Determinación del índice de la calidad proteica en carne de conejo

R. MESA Y M. TOLEDO

Dpto. Ciencia y Tecnología de la Carne, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de la Habana, Cuba

Recibido: 4 de noviembre de 1982

Recibido: 2 de marzo de 1984

ABSTRACT. Samples of two breed rabbit's (Chinchilla and New Zeland) were used in order to study its meat, about protein index quality, (relationship triptophan/hidroxiprolina). Have been determined, that protein percentage and value triptophan and hidroxiprolina were according to literature. Difference significative between breed rabbit's meat, not have been founded.

RESUMEN. Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron muestras de conejo de las razas Chinchilla y Nueva Zelandia, con el objetivo de hacer un estudio de dichas carnes en cuanto a contenido de proteína y el índice de la calidad de la proteína cárnica dado por la relación triptófano/hidroxiprolina. El por ciento de proteína se determinó por el método Kjeldahl y los aminoácidos triptófano e hidroxiprolina por métodos químicos colorimétricos. Por los resultados obtenidos podemos decir que, tanto el por ciento de proteína, como los valores de triptófano e hidroxiprolina se encuentran dentro del rango establecido para las carnes, no habiendo diferencias significativas entre ambas razas en lo que a índice de calidad proteica se refiere.

INTRODUCCION

Las proteínas son los constituyentes más importantes de la materia viva y uno de los elementos básicos y esenciales del hombre y del mundo animal.

Todas las proteínas están compuestas por aminoácidos comunes, diferenciándose considerablemente de unas proteínas a otras. Algunos aminoácidos son esenciales en la dieta y otros no.

La carne y la mayor parte de los productos animales tienen un porcentaje relativamente alto de nutrientes, en proporciones que cubren fácilmente las necesidades nutritivas.

De acuerdo con su procedencia las proteínas del músculo se clasifican en sarcoplasmáticas, miofibrilares y proteínas del tejido conectivo¹.

El triptófano es un aminoácido esencial, siendo el que se encuentra en menor proporción en la carne^{2,3} de ahí el interés por su determinación.

Las proteínas del tejido conectivo (junto a la armazón esquelética) son el principal elemento de sostén del organismo animal. La hidroxiprolina es un aminoácido no esencial y el mayor indicador del tejido conectivo⁴.

Las diferencias que existen en el contenido de aminoácidos entre los prótidos del tejido conectivo y los musculares, fueron aprovechados en las investigaciones sobre la calidad y el valor biológico de la carne^{5,6}, las cuales utilizaron como caracteres de apreciación las proporciones de hidroxiprolina y triptófano.

La determinación, como método sencillo para el cálculo de la calidad de componente fue confirmada por Sokolov⁷.

Se considera que mientras más alta es la relación triptófano/hidroxiprolina, mejor es la calidad de la materia prima cárnica⁸.

El objetivo de este trabajo es determinar el índice de la calidad de la proteína cárnica, en base a la relación triptófano/hidroxiprolina, en dos razas de conejo, comparándolas entre sí.

MATERIALES Y METODOS

Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron dos grupos de conejos de las razas Chinchilla y Nueva Zelandia. Fueron sacrificados con un peso vivo promedio de 2,5 kg.

Las muestras para los análisis fueron tomados del músculo longissimus-dorsi.

Para el estudio estadístico se realizó un análisis de varianza con métodos analíticos:

Determinación de proteína. Se realizó con el método micro-Kjeldahl, el que consiste en tres etapas fundamentales:

Digestión del compuesto orgánico con H_2SO_4 , en presencia de un catalizador, obteniendo sulfato de amonio.

Destilación del amoníaco mediante la adición de un álcalis fuerte (NaOH).

Determinación de amoníaco por titulación sobre ácido.

Se pesaron 100 mg de muestra y la determinación se realizó por triplicado.

Los valores fueron obtenidos según la fórmula:

$$\% \text{ proteína} = N \times 6,25$$

Determinación de triptófano. Fue utilizado el método de Miller⁹ con modificación en la hidrólisis de Lucas y Sotelo¹⁰.

El método se basa en las operaciones fundamentales siguientes:

Hidrólisis del tejido muscular con álcalis.

Neutralización y filtración de hidrolizado.

Oxidación del triptófano y desarrollo de la reacción a color con p-dimetilaminobenzaldehído y fijación del color con HCl (c) y medida de su intensidad.

Técnica operatoria. Pesar 0,5 g de carne previamente homogeneizada y depositar en un ampula con 4 mL de LiOH 4 N. Sellar al vacío las ampulas.

Colocar en baños de aceite a 145°C durante 4 horas.

Neutralizar con ácido ortofosfórico al 88 % en presencia de fenoltaleína.

Llevar a un volumétrico de 50 mL con agua destilada.

Filtrar.

Reacción a color. Tomar 1 mL de hidrolizado y depositar en tubos con tapa, completando hasta 2 mL con agua destilada.

En otro tubo colocar 2 mL de agua destilada para el blanco.

Añadir 5 mL de p-dimetilaminobenzaldehído al 0,5 % en HCl (c).

Esperar 20 minutos y después añadir 0,2 mL de NaNO_2 al 0,2 %.

Esperar 40 minutos y leer a 590 nm en Spekol.

Curva de calibración.

Sin hidrólisis. Preparar una solución patrón de 80 $\mu\text{g/mL}$ de triptófano químicamente puro.

Añadir en tubos tapados concentraciones de 16, 24, 32, 40, 48, 56 $\mu\text{g/mL}$.

Se adiciona 5 mL de p-DAB al 0,5 % en HCl (c). Esperar 20 minutos y añadir 0,2 mL de NaNO_2 al 0,2 %.

Leer a los 40 minutos a 590 nm.

Con hidrólisis. Se prepara una solución patrón de 1 $\mu\text{g/mL}$ de triptófano reactivo. Se añade a las ampulas diferentes concentraciones de triptófano y se adiciona LiOH 4 N y LiOH en polvo según la Tabla I.

TABLA I

Concentraciones para la curva de calibración con hidrólisis

Conc. $\mu\text{g/mL}$	Patrón Triptófano	LiOH 4 N	LiOH Polvo
16	0,8 mL	3,2 mL	0,13 g
24	1,2	2,8	0,19
32	1,6	2,4	0,25
40	2,0	2,0	0,32
48	2,4	1,6	0,39
56	2,8	1,2	0,45

Posteriormente se sigue el resto de la técnica igual que para las muestras.

Determinación de hidroxiprolina. Se utilizó el método de Grau¹¹ con modificación en la hidrólisis.

Operaciones fundamentales en que se basa el método:

Hidrólisis ácida del tejido, oxidación de hidroxiprolina y desarrollo del color reacción con p-dimetilaminobenzaldehído.

Técnica operatoria. Pesar exactamente 200 mg de carne previamente homogeneizada y depositar en ampula con 6 mL de HCl 6N (destilado).

Sellar las ampúlas al vacío y colocarlas en baño de aceite a 105°C por 24 horas.

Evaporar al vacío en rotoevaporador y añadir 10 mL de agua destilada.

Reacción a color. Tomar 0,5 mL de hidrolizado diluido y completar 1 mL con agua destilada en un tubo con tapa esmerilada.

Colocar en otro tubo 1 mL de agua destilada para el blanco.

Añadir los reactivos siguientes:

1 mL de sulfato de cobre 0,05 M; 1 mL de hidróxido de sodio 3,5 N y 1 mL de peróxido de hidrógeno al 6 %.

Después reposar por 5 minutos para que termine la efervescencia y colocar en baño de María a 75°C durante 10 minutos.

Enfriar y añadir 4 mL de ácido sulfúrico 3 N, agitar bien.

Añadir 2 mL de disolución al 5 % de p-DAB, en alcohol n-propílico.

Colocar los tubos tapados en baño María a 75°C durante 20 minutos.

Enfriar y esperar 10 minutos para que se establezca el color y leer a 560 nm, en fotocolorímetro.

Curva de calibración.

Sin hidrólisis. Se preparó una solución patrón con una concentración de 30 µg/mL de hidroxiprolina reactivo y se añadieron en los tubos con tapas esmeriladas concentraciones entre 3 y 30 µg/mL y se realizó la reacción a color igual que para las muestras.

Con hidrólisis. Se prepara una solución de 300 µg/mL, de hidroxiprolina reactivo, de la cual se toman alícuotas entre 0,1 y 1 mL completando a 1 mL con agua destilada, se depositan en ampúlas que se sellan al vacío, se colocan en baño de aceite a 105°C por 24 horas. Se evaporan en roto-evaporador al vacío y se le agregan 10 mL de agua destilada, de las cuales se toman las alícuotas correspondientes para realizar la reacción a color.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los valores obtenidos, tanto para el triptófano, como para la hidroxiprolina, se encuentran dentro del rango planteado por la literatura para las carnes, el cual debe oscilar entre 1 y 1,4 g/100 g proteína.

En la Tabla II vemos que para la raza Nueva Zelandia el valor promedio es de $1,43 \pm 0,25$ g/100 g de proteína, aunque algunos valores están por encima, lo que puede deberse a la variabilidad en el % de recobrado.

En la Tabla III se presentan los resultados obtenidos para la raza Chinchilla, donde se obtuvo un valor promedio de $1,41 \pm 0,25$ g/100 g de proteína.

Respecto a las imprecisiones del método de determinación del triptófano, en cuanto al recobrado, podemos decir, que el método de Miller⁹ plantea recobrados de 80 % o inferiores haciendo la hidrólisis con Ba(OH)₂ y utilizando LiOH 4 N se obtuvieron recobrados de un 87 %, lo que corrobora lo planteado por Lucas y Sotelo¹⁰, que en estas condiciones se mejora el recobrado.

TABLA II

Valores de triptófano obtenido para la raza Nueva Zelandia

Proteína (%)	g triptófano/ 100 g proteína	R	100 D
			R
21,36	1,50	87,2	1,72
20,64	1,14	87,02	1,31
20,34	1,57	86,74	1,81
20,98	1,09	87,14	1,26
24,75	1,57	91,33	1,50
21,36	1,03	80,46	1,28
21,81	0,98	86,72	1,13
20,04	1,38	90,78	1,52

TABLA III

Valores obtenidos para la raza Chinchilla

Proteína (%)	g triptófano/ 100 g proteína	R	100 D
			R
21,45	1,19	87,50	1,36
22,94	1,19	74,37	1,60
22,41	1,18	99,15	1,19
22,78	1,44	88,80	1,62
18,89	1,00	86,95	1,62
18,83	1,32	87,41	1,51
18,99	1,33	87,50	1,52
21,42	1,17	88,31	1,32

En la Tabla IV se observan los valores en la determinación de hidroxiprolina, los cuales también se hallan dentro del rango establecido para las carnes.

En la Tabla V se presentan los valores encontrados para la relación triptófano/hidroxiprolina, los cuales se encuentran también dentro del rango planteado por la literatura para las carnes en general.

De acuerdo con el estudio estadístico realizado encontramos que no se presentaron diferencias significativas entre ninguno de los parámetros analizados para ambas razas, lo que se observa en la Tabla VI.

TABLA IV

Contenido de hidroxiprolina para las razas Chinchilla y Nueva Zelandia

Raza	$\mu\text{g}/$ g carne	g hidroxiprolina/ 100 g proteína	g colágeno/ 100 g proteína
Nueva Zelandia	945	0,402	3,21
	566	0,247	1,97
	735	0,328	2,62
	650	0,285	2,28
	667	0,353	2,82
	707	0,375	3,00
	492	0,259	2,07
	492	0,229	1,83
Chinchilla	562	0,263	2,10
	458	0,222	1,77
	496	0,243	1,94
	683	0,325	2,60
	931	0,376	3,00
	794	0,348	2,78
	705	0,323	2,58
	625	0,312	2,49

TABLA V

Relación triptófano / hidroxiprolina (g/100 g proteína)

R A Z A S	
Nueva Zelandia	Chinchilla
6,53	3,38
5,90	6,47
7,44	3,62
3,87	5,68
3,98	4,58
3,67	4,02
3,49	5,86
4,87	5,76

CONCLUSIONES

Por encontrarse los valores obtenidos para el índice de la calidad proteica (ICP), dentro del rango planteado, concluimos que estas carnes presentan una proteína de buena calidad.

Recomendamos hacer un estudio comparativo del método de determinación de triptófano con otros métodos, con el objetivo de optimizar el recobrado.

TABLA VI

Estudio estadístico realizado para ambas razas

	Nueva Zelandia			Chinchilla		
	Promedio	ES	Sig.	Promedio	ES	Sig.
Proteína	21,41	± 0,58	NS	20,96	± 0,58	NS
Triptófano	1,43	± 0,25	NS	1,41	± 0,25	NS
Hidroxiprolina	0,302	± 0,02	NS	0,310	± 0,02	NS
Triptófano/hidroxiprolina	4,96	± 0,68	NS	4,92	± 0,68	NS

REFERENCIAS

1. PRICE J. F. Y SCHWEIGERT B. S. Ciencia de la Carne y los productos cárnicos. Ed. Acribia, España 1976.
2. MITCHEL H. (1947). Se cita según Zharinov, A. Folleto de especialidad de Ciencia y Tecnología de la Carne. Instituto Central de Investigación de la Carne y la Leche, Moscú URSS, 1977.
3. SHARPENAK N. E. (1959). Se cita según Zharinov A. 1977.
4. NIINIVAARA F. P. Y ANTILA P. Valor nutritivo de la carne. Ciencia y Tecnología de la Carne. Teoría y práctica. Ed. Acribia, Zaragoza, España 1973.
5. WIERBICKI E. Estimation of nutritional value of meat tissue based on their tryptophan and hidroxiprolina composition. 6th. Eur. Meeting Meat Res. Workers, Utrecht 1960.
6. DAHL O. *Journal Science Food Agricultural* 16, 619, 1965.
7. SOKOLOV A. A. (1968). Se cita según Zharinov A. 1977.
8. BIELINSKY N. G. Recomendaciones metodológicas para evaluación biológica de alimentos. VASJNIL, Dpto. Agric. Moscú, 1973.
9. MILLER E. L. *Journal Science Food Agricultural* 18, 9, 1967.
10. LUCAS B. AND SOTELO A. *Analytical Biochemistry* 77, 378, 1980.
11. GRAU R. *Fleischwirtschaft* 14, 207, 1962.