

Um novo método de Ressonância Magnética Nuclear para análise da gordura intramuscular de carne bovina

Introdução

A preocupação com o consumo de altos teores de gordura encontrados nas carnes bovina, suína, aves etc., vem crescendo ultimamente. A gordura desses animais é rica em ácidos graxos saturados e colesterol, e tem sido associada a doenças cardiovasculares, câncer, diabetes e outras doenças.

Nas carnes há dois tipos de gordura, a capa de gordura externa, que pode ser facilmente retirada ao se limpar a carne e a gordura intramuscular, que está espalhada dentro da carne e não pode ser removida. A gordura intramuscular, também denominada marmoreio, está relacionada à maciez, suculência e outras qualidades sensoriais da carne. Nos países desenvolvidos, a carne com maior marmorização é considerada a carne de melhor qualidade e tem maior valor comercial. Assim, é importante determinar o teor de gordura intramuscular de carnes tanto pelo aspecto nutricional quanto pelo valor comercial.

Porém, esta informação não está disponível devido à alta variabilidade da quantidade de gordura (afetada pelo grupo genético, sexo, idade, dieta animal e peso) e a falta de um método analítico de alta velocidade e não destrutivo para se medir o teor de gordura em carne frescas. Assim, os valores presentes nos rótulos das carnes não refletem a quantidade de gordura daquela porção de carne específica, mas um valor comum do tipo de carne.

Os métodos existentes para se medir densidades da capa de gordura são baseados em imagem por ultra-som, tomografia computadorizada e ressonância magnética nuclear. Porém, a quantidade de gordura intramuscular (QGI) a qual não pode ser removida mecanicamente da carne bovina é a mais difícil de medir. Normalmente, a QGI é determinada por extração com solvente ou por métodos espectroscópicos por RMN baseados na diferença gordura/água em experimentos de alta resolução, por medida do tempo de relaxação longitudinal (T_1) usando um método rápido de inversão-recuperação (IR) com seqüências de pulsos, ou analisando o tempo de relaxação transversal (T_2), com a seqüência de pulsos do Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG).

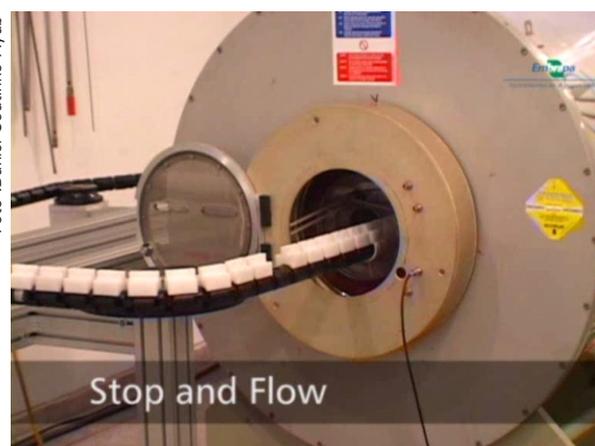


Foto: Daniel Coutinho Ayub

Neste trabalho desenvolveu-se um novo método de RMN para se medir QGI em carne bovina (CORREA et al., 2008). O método chamado de precessão livre em onda contínua (CWFP) é simples, de alta velocidade e não destrutivo. É baseado nas informações dos dois tempos de relaxação longitudinal (T_1) e transversal (T_2). A seqüência de pulsos de CWFP é um trem de pulsos de $\pi/2$ com a mesma fase e separados por um tempo $T_p < T_2^*$ (VENÂNCIO et al., 2005), onde T_2^* é a constante de tempo de decaimento da indução livre.

Parte experimental

Amostras de carne bovina

Foram analisadas vinte amostras de carne bovina (*longissimus lumborum*) de aproximadamente 1cm de espessura. Uma amostra cilíndrica, 8 mm de diâmetro e de 1 cm de espessura, foi retirada de cada amostra de carne. Essas foram colocadas em uma esteira com um espaçamento de 20 cm entre cada amostra. O restante das amostras foram moídas e liofilizadas, e a gordura intramuscular foi determinada pelo método de extração de soxhlet com hexano (CORREA et al., 2008).

Autores

Cátia Crispilho Corrêa
Química, MSc.,
Instituto de Química, USP,
São Carlos, SP
catia@cnpdia.embrapa.br

Lucimara Aparecida Forato
Química, Dra., Pesquisadora
Embrapa Instrumentação
Agropecuária, C.P. 741,
CEP 13560-970, São Carlos, SP
lucimara@cnpdia.embrapa.br

Luiz Alberto Colnago
Farmacêutico, Dr., Pesquisador
Embrapa Instrumentação
Agropecuária, C.P. 741,
CEP 13560-970, São Carlos, SP
colnago@cnpdia.embrapa.br

Análises por RMN

As medidas foram realizadas em um ímã supercondutor Oxford de 2,1 Tesla, (85 MHz para ^1H) e com 30 cm de bore. A parte eletrônica consiste de um console de RMN Apollo, um amplificador de potência 2035 AMT e um pré-amplificador AU1448 da Miteq. As amostras foram analisadas em torno de $15\text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5$.

Análise por CPMG

A seqüência de CPMG utiliza uma largura de pulso de $\frac{1}{2}$ pulso de $10\text{ }\mu\text{s}$, com um tempo de repetição de cada pulso de $0,2\text{ ms}$, o tempo de aquisição de cada eco 16 s (dwell time 1 s), número de ecos de $n = 1000$, tempo de espera = 2 s . O número de aquisições igual a 4. A fase do sinal da componente real foi corrigida, e os dados do centro de cada tempo de aquisição foram usados na curva de CPMG.

Análise por CWFP

A seqüência de CWFP utiliza um trem de pulsos (3000 pulsos) separados por um tempo de $0,3\text{ ms}$, com um tempo de espera de 2 s . Uma única aquisição foi usada. A frequência de offset foi de 5 kHz (3 °), (VENÂNCIO et al., 2005), e a largura de cada pulso foi de $10\text{ }\mu\text{s}$ para amostras pequenas e $15\text{ }\mu\text{s}$ para amostras empacotadas. As magnitudes dos sinais foram usadas nas análises.

Para a Transformada Inversa de Laplace (ILT) utilizou-se um programa baseado no algoritmo do CONTIN, denominado multiexp, fornecido pelo Professor Daniel Pusiol da Universidade de Córdoba, Argentina.

Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra os sinais de CPMG (linha pontilhada) e CWFP (linha cheia) obtidos para uma mesma amostra de carne de bovina. O valor do tempo de relaxação T_2 e área do sinal de CPMG foi calculado pela transformada inversa de Laplace (ILT) e observa-se três picos (T_{21} , T_{22} e T_{23}) em 17 , 50 e 170 ms , contendo uma área total de 8 , 79 e 13% , respectivamente.

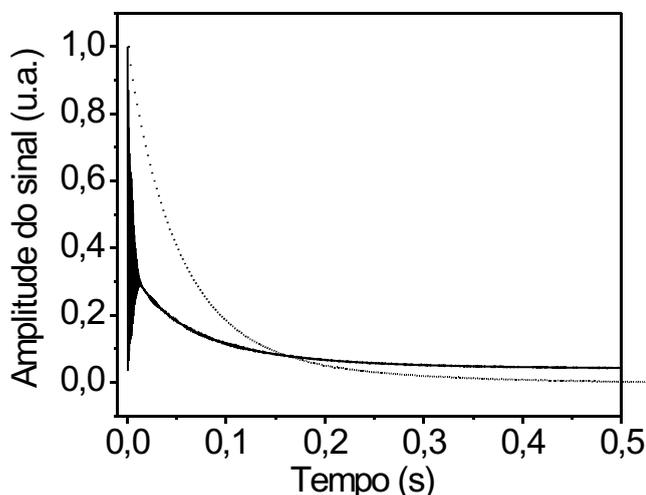


Fig. 1. Sinal das amostras de carne bovina pelas técnicas de CPMG (linha pontilhada) e CWFP (linha cheia).

O sinal de CWFP para amostra de carne bovina mostra dois regimes distintos. O primeiro, entre 0 e $0,15\text{ ms}$, é caracterizado por uma alternância da amplitude entre e pulsos. Esta alternância decai com uma constante de tempo relacionada a T_2^* (VENÂNCIO et al., 2005). Este regime é seguido por um estado quasi-estacionário, de $0,15$ a 500 ms onde estas alternâncias desaparecem e observa-se um decaimento mais lento, controlada por T_1 e T_2 . A constante de tempo do decaimento exponencial do regime quasi-estacionário para os $\frac{1}{2}$ pulsos (T^*) é determinado por:

$$T^* = 2T_1T_2 / (T_1 + T_2) \quad (1)$$

A constante de tempo T^* do regime quasi-estacionário pode ser calculado por ILT. Essa constante (T^*) possui dependência de ambos os tempos de relaxação (equação 1) e também observa-se três picos (T_{21}^* , T_{22}^* e T_{23}^*) em 32 , 88 e 310 ms , contendo uma área total de 40 , 56 e 4% , respectivamente. Usando estes valores de T_2 , T^* e a equação 1, foi calculado que $T_1/T_2 \sim 10$, concordando com os valores observados para a água em músculos.

O regime do estado verdadeiramente estacionário de CWFP só é atingido depois de 500 ms , e sua intensidade (M_s) não é mínima como em CPMG (Fig. 1). É igual à relação dos tempos de relaxação

$$|M_s / M_0| = T_2 / (T_1 + T_2) \quad (2)$$

M_0 é a magnetização no equilíbrio térmico.

A razão M_s/M_0 é aproximadamente $0,06$ para carne bovina, esse valor é muito baixo e reflete a grande relação entre os tempos de relaxação, $T_1/T_2 \sim 10$, observada para água em músculo e carne.

A equação 2 mostra que a intensidade do sinal de CWFP não é dependente dos valores absolutos de T_2 ou T_1 , mas sim na relação de ambos os tempos de relaxação. As equações 1 e 2 podem ser usadas para calcular T_1 e T_2 em um único experimento de CWFP. Este cálculo só é aplicado para componentes que possuem somente um sinal, pois não é possível medir $|M_s/M_0|$ em sinais com multicomponentes como amostras de carne bovina. Porém, M_s/M_0 e T^* contêm informações tanto de T_1 quanto de T_2 que podem ser usadas para se analisar a quantidade de gordura em carne bovina, como mostrado na Figura 2.

A Figura 2 mostra a correlação entre os dados obtidos por CPMG (a) e CWFP (b) com os dados da gordura intramuscular obtidos pelo método de extração com solvente das amostras de carne bovina. A correlação dos dados de CPMG com a gordura intramuscular extraída com hexano (Fig. 2a) é muito baixa e negativa, com $r = -0,25$, refletindo uma pequena variabilidade da quantidade de gordura ($0,5$ a 4%) nas amostras. Uma alta correlação entre dados de CPMG e a quantidade de gordura em carne foi publicada com mais de 12% de variação.

O valor da razão de M_s/M_0 mostra uma alta correlação e um valor positivo ($r = 0,9$) com a gordura intramuscular extraída por hexano (Fig. 2b) devido a um aumento de quase cinco vezes em relação a M_s/M_0 para a componente de gordura $T_1/T_2 \sim 2$ em comparação com à água em músculo ($T_1/T_2 \sim 10$).

Este é um aumento de cinco vezes no sinal da gordura intramuscular em relação ao sinal de água em músculo, equivalente a um aumento da gordura intramuscular pelo mesmo fator (equivalente a 2,5 a 20% variação).

O CWFP permite analisar cerca de 20 amostras embaladas (~ 1kg) separadas por 20 cm em aproximadamente 1 minuto. Isso representa um potencial para se analisar mais de 1000 amostras por hora.

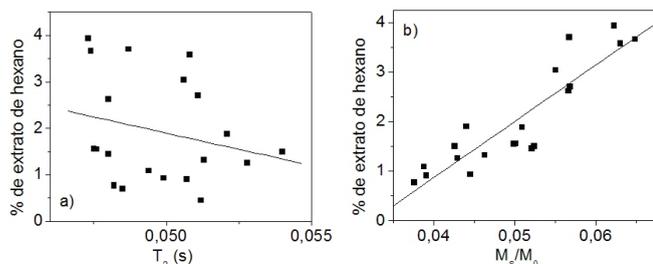


Fig. 2. Correlação da gordura intramuscular com os valores de T_2 medido por CPMG, $r = -0,25$, (a), e $|M_s/M_0|$ por CWFP, $r = 0,9$ (b).

Conclusões

Com as vantagens apresentada, simplicidade e facilidade de automatização, conclui-se que a técnica de CWFP tem grande potencial como ferramenta de análise de gordura intramuscular em carne bovina como também em outras carnes e produtos cárneos.

Referências

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, nov. 2008. DOI: 10.1007/s002/6-008-2526-6.

VENÂNCIO, T.; ENGELSBERG, M.; AZEREDO, R. B.V.; ALEM, N. E.R.; COLNAGO, L. A. Fast and simultaneous measurement of longitudinal and transverse NMR relaxation times in a single continuous wave free precession experiment. **Journal of Magnetic Resonance**, San Diego, v. 173, p. 34-36, 2005.

Circular Técnica, 42

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Instrumentação Agropecuária
Rua XV de Novembro, 1542 - 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 2008: tiragem 300

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Comitê de Publicações

Presidente: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Membros: Dra. Débora Marcondes B. P. Milori,
Dr. João de Mendonça Naime,
Dr. 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: Valentim Monzane
Editoração eletrônica: Manoela Campos