

# CONTENIDO DE COLÁGENO Y SUS FRACCIONES EN TRES MÚSCULOS DE TORETES COMERCIALES

## Collagen Content and its Fractions in Three Muscles in Commercial Young Bulls

Oneida E. Morón-Fuenmayor<sup>1</sup>, Natalia F. González-Méndez<sup>2</sup> y Francisco A. Vázquez-Ortiz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Zootecnia. Facultad de Agronomía. La Universidad del Zulia. Apto. 15205. Maracaibo. Venezuela.

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.)

Hermosillo, Sonora, México. E-mail: omoron@cantv.net

### RESUMEN

Se evaluaron los músculos *Longissimus thoracis* (n=20), *Latisimus dorsi* (n=20) y el *Semitendinosus* (n=20) de toretes mestizos comerciales con la finalidad de determinar la concentración de colágeno total y sus fracciones (soluble e insoluble). Se utilizó un diseño completamente al azar. Los resultados indicaron que existen diferencias ( $P<0,05$ ) en el contenido de colágeno total y soluble para los distintos músculos. Los contenidos de colágeno total en los músculos *Longissimus thoracis* y *Latissimus dorsi* fueron más altos (6,29 y 7,03 mg/g de músculo fresco) que en el *Semitendinosus* (0,62 mg/g músculo fresco). El *Longissimus thoracis* resultó con el más alto ( $P<0,05$ ) porcentaje de colágeno soluble (22,2%) al compararlo con el *Semitendinosus* y *Latissimus dorsi*, respectivamente. Se concluye en este estudio que, existen diferencias para el contenido de colágeno total y soluble en los músculos *Longissimus thoracis*, *Semitendinosus* y *Latissimus dorsi* de toretes mestizos comerciales.

**Palabras clave:** Torettes, mestizo, tipos de músculos, contenido de colágeno.

### ABSTRACT

*Longissimus thoracis* muscles (n=20), *Latisimus dorsi* (n=20) and the *Semitendinosus* (n=20) were evaluated in commercial young bulls with the purpose of determine the concentration of total collagen and its fractions (soluble and insoluble). A completely randomized design was used. Total collagen and solubility differences were present ( $P<0.05$ ) in the different muscles. Total collagen was higher in the *Longissimus thoracis* and *Latissimus dorsi* (6.29 and 7.03 mg/g of fresh muscle) than *Semitendinosus* (0.62 mg/g fresh muscle). Collagen solubility was higher ( $P<0.05$ ) in *Longissimus thoracis* muscle (22.2%)

than *Semitendinosus* and *Latissimus dorsi*, respectively. In conclusion, there are differences in total collagen and solubility in *Longissimus thoracis*, *Semitendinosus* and *Latissimus dorsi* muscles in commercial young bulls.

**Key words:** Young bulls, crossbred, muscle types, collagen content.

### INTRODUCCIÓN

La calidad organoléptica de la carne vacuna que más influye sobre su aceptación por parte del consumidor, es la ternera o blandura [16, 17, 18]. Entre las características que han sido relacionadas con la ternera se encuentran: la cantidad de grasa intramuscular [7], la longitud del sarcómero [11], la cantidad de tejido conectivo [4], el tamaño y tipo de fibra muscular [5, 24] y la actividad enzimática [6, 17].

El tejido conectivo forma una red en el músculo con tres niveles de organización estructural [22, 23] siendo el colágeno Tipo I, el mayor constituyente proteico y varía su concentración entre los músculos de la canal [1]. Estas variaciones podrían explicar lo referente a la dureza de la carne. Las concentraciones del colágeno no cambian significativamente durante el crecimiento hasta sacrificio, pero la solubilidad disminuye con la edad del animal [2, 10, 14].

La determinación de la cantidad total de colágeno en carne, se realiza a través de métodos químicos cuantificando la hidroxiprolina. El contenido de este aminoácido secundario, es relativamente constante y no se encuentra en cantidades significativas en otras proteínas animales [12, 20]. El contenido de hidroxiprolina varía desde el 13% en el colágeno Tipo I hasta el 17,4% en el Tipo III. Se requiere de un método que produzca una hidrólisis total del tejido conectivo para liberar la cantidad de hidroxiprolina que permita cuantificar la concentración de colágeno en la carne [2].

La solubilidad del colágeno en la carne es afectada por varios factores entre ellos están la edad, las condiciones de almacenamiento y las diferencias entre músculos. Estos mismos investigadores afirman que a altos pH, la carne es más tierna debido probablemente al incremento de proteínas que se encuentran sobre su punto isoeléctrico. Menores valores reportados en cuanto a la resistencia al corte fueron obtenidos a pH entre 4,0 y 4,5. Obviamente, el mayor efecto se presenta en la capacidad de retención de agua de las miofibrillas, pero los valores de la resistencia al corte parecen estar relacionados con el contenido de colágeno en la carne [2].

El propósito de este estudio es determinar el contenido de colágeno total y sus fracciones (soluble e insoluble) en tres músculos de toretes comerciales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

60 canales de toros mestizos comerciales de 15 meses de edad promedio y alimentados bajo condiciones de estabulación durante 6 meses, fueron clasificadas como "Buenas" según el Sistema de Clasificación de Canales Bovinas por el que se rige el estado de Sonora, México y que toma como base el de United States Department of Agriculture (USDA) [8,27] a las 24 horas *postmortem*. Se diseccionaron las canales y se separaron los músculos *Longissimus thoracis* (n=20); *Latissimus dorsi* (n=20) y *Semitendinosus* (n=20). Los músculos fueron empacados al vacío, previamente identificados y refrigerados a 0°C para ser enviados por paquetería aérea al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.) en Hermosillo, Sonora desde Culiacán, Sinaloa-México para su posterior análisis. El experimento se desarrolló en la Ganadería VIZUR ubicada en la carretera Culiacán, Viruato Km 14,5.

A nivel de laboratorio, se pesaron 2,5 g de muestra seca, desgrasada y molida en un molino marca Cyclotec (Tecator 1092) con una malla No. 80 con la finalidad de determinar por triplicado la cantidad de colágeno total, soluble e insoluble de cada músculo en estudio utilizando la técnica propuesta por Hill [15] con las siguientes modificaciones: las muestras se colocaron en tubos para centrifugar de 20 ml (Beckman, Polyallemer) con 15 ml de solución Ringer's (6,5 g NaCl, 0,14 g KCl, 0,12 g CaCl<sub>2</sub>, 0,2 g NaHCO<sub>3</sub>, 0,01 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> por litro), luego se sometieron a baño María durante 2 horas a 90°C. Una vez transcurrido este tiempo, fueron centrifugadas en una centrifugadora refrigerada marca Berckman CS-15R, a 3000 r.p.m. por 10 min. y a 25°C, luego fueron filtradas utilizando un filtro Whatman No.41 para separar las dos fracciones (soluble e insoluble). La fracción insoluble fue lavada de nuevo con 10 ml de solución Ringer's, filtrada y centrifugada bajo las mismas condiciones antes mencionadas. Se procedió luego a secar esta fracción a 105°C durante 24 horas.

Una vez separadas las dos fracciones (soluble e insoluble) se tomaron 100 µl de la soluble y 3,0 mg de la insoluble. Se hidrolizaron las muestras durante 6 horas con HCl 6M en tubos de vacío de 2 ml (Pierce Cat.No. 29560) colocados en placas de calentamiento (Pierce Cat. No. 18870) a 150°C. El hidrolizado fue evaporado al vacío a 65°C (Brinkmann Büchi RE 121) y resuspendido en 2 ml. de una solución de citrato de sodio Buffer 0,2M (pH 2,2) (Pierce Cat.No. 27216).

Se tomaron 250 µl del hidrolizado de cada fracción y se aforaron a 1 ml con buffer de Borato 0,4 M y pH 10,4 (Pierce Cat.No. 27035). De esa dilución se tomaron 250 µl y se adicionó 250 µl del agente derivador NBD-Cl (7-cloro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol, C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>, Sigma Cat.No. C-5261); seguida se procedió a calentarlo a 65°C durante 5 min. y después de transcurrido este tiempo, se detuvo la reacción con 50 µl de HCl 1M y se enfrió a 0°C.

Se inyectaron por triplicado, 10 µl de muestra con la finalidad de determinar la concentración de hidroxiprolina por Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC). El equipo utilizado fue un sistema de bomba de solventes modelo Varian 9010 acoplado a un detector de Fluorescencia marca Fluorichrom II, el detector estaba conectado a una computadora y manejado a través de un software de cromatografía de Varian versión 4,0 (Varian Assoc. Inc. Walnut Creek, USA). Se usó una columna en fase reversa C-18 con 3 µm (partículas de octadecil dimetilsilano) (Varian Cat.No.R0089200E3). La fase móvil consistió en una mezcla de buffer de acetato de sodio 0,1M, pH 7,2 tetrahidrofurano y metanol grado HPLC (900:95:5 v/v).

La cuantificación de las diferentes fracciones (soluble e insoluble) se realizó según Cross [9]. El contenido de colágeno total fue el resultado de la suma de las dos fracciones (soluble e insoluble). Los resultados fueron expresados en mg/g de músculo fresco.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Las variables dependientes evaluadas fueron: la cantidad de colágeno total, soluble e insoluble. Los datos fueron analizados por el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS) [25].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La TABLA I presenta el contenido de colágeno total y sus fracciones (soluble e insoluble) en tres tipos de músculos de toretes comerciales.

Los distintos músculos difirieron (P<0,05) en cuanto al contenido de colágeno total, soluble y porcentaje de solubilidad. El músculo *Semitendinosus* tuvo menos (P<0,05) contenido de colágeno total (5,78 mg/g músculo fresco) y la fracción soluble fue de 0,62 mg/g de músculo fresco seguido del *Latissimus dorsi* y *Longissimus thoracis*, respectivamente. El *Lon-*

TABLA I  
CONTENIDO DE COLÁGENO TOTAL Y SUS FRACCIONES EN TRES MÚSCULOS DE TORETES COMERCIALES

VARIABLES	<i>Longissimus thoracis</i>	<i>Latissimus dorsi</i>	<i>Semitendinosus</i>
Colágeno total <sup>(1)</sup>	6,29 ± 0,20 <sup>a</sup>	7,03 ± 0,36 <sup>a</sup>	5,78 ± 0,36 <sup>b</sup>
Colágeno soluble <sup>(1)</sup>	1,40 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,16 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,62 ± 0,1 <sup>b</sup>
Colágeno insoluble <sup>(1)</sup>	4,89 ± 0,20 <sup>a</sup>	5,87 ± 0,34 <sup>a,b</sup>	5,16 ± 0,34 <sup>a</sup>
Colágeno soluble, %	22,2 ± 3,0 <sup>a</sup>	16,5 ± 2,1 <sup>b</sup>	10,7 ± 2,1 <sup>c</sup>

a,b,c: Letras distintas en una misma fila son diferentes (P<0,05). (1): mg/g de muestra fresca.

*gissimus thoracis* tuvo el más alto porcentaje de colágeno soluble (P<0,05) con respecto al *Latissimus dorsi* y *Semitendinosus* en 6 y 12 puntos porcentuales, respectivamente. Estos resultados coinciden con diferentes trabajos que cuantifican el contenido de colágeno y sus fracciones en distintos músculos (*Longissimus dorsi*, *Semitendinosus*, *Psoas major*) obteniendo diferencias entre ellos [9, 12, 13, 26]. Se coincide con los resultados obtenidos por Moloney y col. [19] quienes señalaron que, debido a la ubicación y a la actividad que realiza cada músculo, pueden explicar la variación existente entre ellos con respecto al contenido de colágeno. Además afirmaron estos mismos autores que, el contenido de colágeno en los músculos de bovinos, dependía de la proporción del Tipo de Fibra. Es el caso de la dureza que presenta el *Semitendinosus* ya que, presenta una mayor proporción de fibra Tipo I y III, mientras que, el *Longissimus thoracis* y *Latissimus dorsi* tienen mayor proporción de fibras Tipo II. Sin embargo, según Boccard y col. [3] el hecho de que el músculo *Semitendinosus* tenga menos cantidad de colágeno, también puede deberse a que contiene una lámina de aponeurosis interna adicional. Sin embargo, otros autores señalan que, los factores que pueden influir en la determinación del colágeno como indicador de la dureza de la carne, es la estructura de los enlaces entrecruzados y la edad del animal [10, 11, 21, 23, 28].

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se concluye que existen diferencias en el contenido de colágeno total y soluble según el tipo de músculo en toretes comerciales, pero puede ser debida a la actividad que realiza cada uno y al tipo de fibra que contengan en mayor proporción. El *Longissimus thoracis* tuvo mayor contenido de colágeno soluble que el *Latissimus dorsi* y el *Semitendinosus*.

Se recomienda continuar con este tipo de investigaciones midiendo las diferencias según la actividad y tipo de fibra.

## AGRADECIMIENTO

Se agradece la colaboración prestada por la Ganadería VIZUR y al laboratorio de Nutrición del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C.) por su valiosa colaboración con equipos y asistencia técnica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BAILEY, A.J. The basis of meat texture. **J. of Food Sci. and Agric.** 23: 995-1007. 1972.
- [2] BAILEY, A.J.; LIGHT, N.D. **Connective tissue in meat and meat products.** London: Elsevier Applied Science. 350 pp. 1989.
- [3] BOCCARD, R.L.; NAUDE, R.T.; CRONJE, D.E.; SMITH, M.C.; VENTER, H.J.; ROSSOUW, E.J. The influence of age, sex and breed of cattle on their muscle characteristics. **Meat Science** 3:261-265. 1979.
- [4] BURSON, D.E.; HUNT, M.C. Proportion of collagen types I and III in four bovine muscles differing in tenderness. **J. of Food Sci.** 51(1): 51-53. 1986.
- [5] CALKINS, C.R.; DUTSON, T.R.; SMITH, G.C.; CARPENTER, Z.L.; DAVIS, G.W. Relationship of fiber type composition to marbling and tenderness of bovine muscle. **J. of Food Sci.** 46: 708-710. 1981.
- [6] CALKINS, C.R.; SEIDEMAN, S.C. Relationship among Ca-dependent protease, cathepsins B and H, meat tenderness and the response of muscles to aging. **J. Anim. Sci.** 66:1186-1194. 1988.
- [7] CAMPION, D.R.; CROUSE, J.D.; DIKEMAN, M.E.. Predictive value of USDA beef quality factors for cooked meat palatability. **J. Anim. Sci.** 40: 1225-1230. 1975.
- [8] COMITÉ ESTATAL DE FOMENTO Y DEFENSA DE LA GANADERIA. GOBIERNO DEL ESTADO DE SONORA. Acuerdo y Reglamento del Servicio de Clasificaciones y Especificaciones de Ganados y Carnes para el Estado de Sonora. 44 pp. 1969.
- [9] CROSS, H.R.; CARPENTER, Z.L.; SMITH G.C. Effects of intramuscular collagen and elastin on bovine muscle tenderness. **J. of Food Sci.** 38: 998-1003. 1973.
- [10] CROSS, H. R.; SCHANBACHER, B.D.; CROUSE, J.D. Sex, age and breed related changes in bovine testosterone and intramuscular collagen. **Meat Science.** 10: 187-195. 1984.
- [11] DRANSFIELD, E. Intramuscular composition and texture of beef muscles. **J. Sci. Food Agric.** 28:833-842. 1977.

- [12] ETHERINGTON, D.J.; SIMS, T. Detection and estimation of collagen. **J. Sci. Food Agric.** 32(6): 539-546. 1981.
- [13] GERRARD, D.E.; JONES, S.J.; ABERLE, E.D.; LEMENAGER, R.P.; DIECKMAN, M.A.; JUDGE, M.D. Collagen solubility, testosterone secretion and meat tenderness in growing bulls and steers. **J. Anim. Sci.** 65:1236-1242. 1987.
- [14] HERRING, H.K.; CASSENS, R.G.; BRISKEN, E.J. Factors affecting collagen solubility in bovine muscles. **J. of Food Sci.** 32: 534-538. 1967.
- [15] HILL, F. Solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. **J. of Food Sci.** 31:161. 1966.
- [16] KOOHMARAIE, S.C.; SEIDEMAN, S.C.; SCHOLLMAYER, J.E.; DUTSON, T.R.; BABIKER, A.S. Factors associated with the tenderness of three bovine muscle. **J. of Food Sci.** 53(2):407-410. 1988.
- [17] KOOHMARAIE, M.; WHIPPLE, G.; CROUSE, J.D. Acceleration of postmortem tenderization in lamb and Brahman-cross beef carcasses through infusion of calcium chloride. **J. Anim. Sci.** 68:1278-1283. 1990.
- [18] MILLER, M.F.; HUFFMAN, K.L.; GILBERT, S.Y.; HAMMAN, L.L.; RAMSEY, C.B. Retail consumer acceptance of beef tenderized with calcium chloride. **J. Anim. Sci.** 73: 2308-2314. 1995.
- [19] MOLONEY, A.P.; ALLEN, P.; ROSS, D.B.; OLSON, G.; CONVEY, E.M. Growth, feed efficiency and carcass composition of finishing friesian steers fed the  $\beta$ -adrenergic agonist L-644,969. **J. Anim. Sci.** 68: 1269-1277. 1990.
- [20] PRICE, J.F.; SCHWEIGERT B.S. **Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos**. Editorial Acribia. Zaragoza-España. 379 pp. 1976.
- [21] PURCHAS, R.W. The relative importance of some determinants of beef tenderness. **J. of Food Sci.** 37: 341-345. 1972.
- [22] PURSLOW, P.P. Measuring meat texture and understanding its structural basis. In J. Vincent and P. Lillford (Eds), **Feeding and the texture of food**. Cambridge: Lillford CUP. 35-56 pp.1991.
- [23] ROWE, R.W.D. Morphology of perimysial and endomysial connective tissue in skeletal muscle. **Tissue and Cell.** 13:681-690. 1981.
- [24] SEIDEMAN, S.C.; CROUSE, J.D. The effects of sex condition, genotype and diet on bovine muscle fiber characteristics. **Meat Science.** 17:55-60. 1986.
- [25] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE, INC. **SAS User's Guide: Statistics**. Version 6,04. Inc., Cary, NC. 1996.
- [26] TORRESCANO, G.; SÁNCHEZ, A.; RONCALES, P.; BELTRÁN, J.A. Texture and collagen characteristics of mayor beef muscle. **46 th International Congress of Meat Science and Technology**. Buenos Aires, Argentina. August, Congress Proceedings. 2. 4.I-P2. 2000.
- [27] UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE, (USDA). United States Standards for Grades of Carcass Beef. 16 pp. 1997.
- [28] VESTERGAARD, M.; THERKILDSEN, M., HENCKEL, P.; JENSEN, L.R.; ANDERSEN, H.R.; SEJRSEN, K. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on meat and eating quality of young bulls and the relationship between muscle fibre characteristics, fibre fragmentation and meat tenderness. **Meat Science.** 54: 187-195. 2000.