

Estandarización de la metodología para la determinación de grasa en la carne de cerdo

Pork fat determination methodology standardization

María Antonia Mariezcurrena Berasain^a, Diego Braña Varela^b, José Armando Partida de la Peña^b, Ericka Ramírez Rodríguez^b, Ignacio Domínguez Vara^a

RESUMEN

El estudio de la concentración de grasa en la carne de cerdo cobra cada día mayor importancia, principalmente por su impacto en la calidad de la carne y por el potencial que existe para manipularla, ya sea mediante la genética o la nutrición; sin embargo, para el análisis de la concentración de grasa en la carne de cerdo existen múltiples variantes, las cuales pueden afectar el tipo y la cantidad de grasas recuperadas, por lo que el presente trabajo fue diseñado para definir y estandarizar la metodología más eficiente y eficaz para determinar la concentración de grasa en muestras de carne de cerdo. Se utilizó un método gravimétrico para la extracción de grasas y se evaluaron en un arreglo factorial las variables que más frecuentemente se modifican (4 solventes, 2 tiempos de ebullición y 2 tamaños de muestra). La extracción más eficiente de grasa se obtuvo con un tamaño de muestra de 3 g, con una proporción de solventes cloroformo-metanol 2:1, y un tiempo de ebullición de 50 min. Esto implica que la cantidad de grasa obtenida de una muestra, varía considerablemente no sólo en función del tipo de análisis si no también, del solvente y el tiempo empleado, por lo que se deberá tener extremo cuidado en la interpretación de datos analizados con diferentes metodologías.

PALABRAS CLAVE: Extracción de grasa, Grasa intramuscular, Éter, cloroformo:metanol, Carne de cerdo.

ABSTRACT

Studying pork fat content is important due to its impact on meat quality and because of the potential ability to manipulate pork fat content by either genetics or nutrition. Multiple methods exist to measure pork fat content, which can affect the type and quantity of fat recovered. Therefore, this study was designed to define and standardize the most efficient/efficacious methodology to determine fat concentration in pork samples. Fat was extracted using a gravimetric method, where the most frequently-affected variables were evaluated using a factorial arrangement (4 solvents, 2 boiling times, and 2 sample sizes). The most efficient fat extraction method consisted of using 3-gram samples with a 2:1 chloroform:methanol solvent and 50-min boiling time. This implies that the amount of fat obtained from a sample varies considerably not only as a function of analysis type, but it is also affected by both solvent and time, then extreme care must be taken when analyzing results from different methodologies.

KEY WORDS: Fat extraction, Intramuscular fat, Ether, Chloroform:methanol, Pork.

De acuerdo con diferentes encuestas realizadas a consumidores de carne de cerdo en México⁽¹⁾, así como con distintos estudios de preferencia^(2,3) las predilecciones en carne de cerdo se inclinan por un producto cada vez más magro. Por ejemplo, con consumidores americanos, se determinó que más

Through different pork consumer surveys carried out in Mexico⁽¹⁾, together with other preference studies^(2,3) show a growing preference for leaner pork. For example, in excess of 80 % American consumers select pork chops with less than 2 % fat⁽²⁾. A survey performed by the Mexican Swine

Recibido el 27 de noviembre de 2007. Aceptado para su publicación el 3 de febrero de 2008.

^a Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

^b Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal-INIFAP. km 1 Carretera a Colón, 76280 Ajuchitlán, Qro. brana.diego@inifap.gob.mx. Correspondencia al segundo autor.

del 80 % de los consumidores seleccionan chuletas de cerdo con niveles menores al 2 % de grasa⁽²⁾. En el caso de los consumidores mexicanos, según la encuesta a amas de casa que realizó la Confederación de Porcicultores Mexicanos (2008), más del 50 % considera la cantidad de grasa presente en la carne antes de hacer su selección. En la carne de cerdo, la grasa intramuscular influye importantemente en las características sensoriales, ya que proporciona aroma, sabor y jugosidad⁽⁴⁾.

En el músculo, un incremento de hasta el 3.5 % de grasa intramuscular favorece la calidad de la carne^(4,5), lo que representa una oportunidad, ya que su concentración puede alterarse por medio de la genética y la nutrición^(6,7,8). Esto hace necesario que se cuente con métodos confiables para su correcta determinación.

Mientras que varios métodos han sido aprobados por el AOAC para la determinación de grasa en muestras de carne, nuevos sistemas de extracción tipo Soxhlet ofrecen diferentes alternativas (diferentes solventes, tamaños de muestra y tiempos de extracción), lo cual hace necesaria la comparación entre las distintas metodologías.

El presente trabajo, tuvo como objetivo definir y estandarizar la metodología más eficiente (cantidad de grasa extraída) y eficaz (repetitividad) para determinar la concentración de grasa en muestras de carne de cerdo. El método que se utilizó para la extracción de grasa en la carne, es una modificación del recomendado por el fabricante del equipo de extracción Soxtec Foss Tecator 2055, el cual está basado en el método gravimétrico establecido por la AOAC⁽⁹⁾ y permite el análisis de seis muestras a la vez.

Para realizar la extracción, la muestra de carne previamente secada a peso constante (24 h a 65 °C), se mezcla con 5 g de arena y se coloca en un dedal de cartón previamente secado. Luego inicia el proceso que se realiza en cuatro fases. La primera se denomina ebullición y en ésta el dedal junto con la muestra están sumergidos en el solvente, en la segunda fase el dedal y la muestra son enjuagados constantemente por el solvente que se condensa y

Producer Confederation in 2008 showed that more than 50 % housewives take fat content into account at the time of meat selection. Intramuscular pork fat has a strong impact on sensorial traits, because it provides meat with aroma, taste, and juiciness⁽⁴⁾.

An increase of up to 3.5 % intramuscular fat enhances pork quality^(4,5). This poses an opportunity, since fat content can be altered by genetic or nutritional means^(6,7,8). Therefore, reliable methods are needed for proper fat determination.

The Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) has approved several methods for the determination of fat in meat samples. Nevertheless, new fat extraction systems (i.e., the Soxhlet) offer different alternatives (different solvents, samples sizes, and extraction times). Therefore, a comparison of the different methodologies is needed.

The purpose of this study was to define and standardize the most efficient (amount of fat extracted) and efficacious (repetitiveness) methodologies to determine fat concentrations in pork samples. The method used to extract pork fat is a modification of that recommended by the Soxtec Foss Tecator 2055 extraction equipment manufacturer, which is based on a gravimetric method established by the AOAC⁽⁹⁾, it allows for analyzing six samples at a time.

In order to perform the extraction, a meat sample is previously dried down to a constant weight (24 h at 65 °C), then mixed with 5 g of sand and placed in a pre-dried paper thimble. The extraction process that includes four phases is started. Phase 1 (varies between 20 to 75 min), is called the boiling phase. Both thimble and samples are immersed in a solvent. In Phase 2 (30 min), both sample and thimble are subjected to a constant solvent rinse, which is condensed and drained through the sample. During Phase 3 (10 min) the solvent is recovered. Finally, the sample is dried in Phase 4 (10 min).

Our study evaluated the variables that are most frequently modified during a meat fat analysis, i.e., the effect of three different solvent types: petroleum

escurre por la muestra; en la tercera fase, el solvente es recuperado y en la última fase la muestra se seca. Normalmente los tiempos en la fase de ebullición varían entre 20 y 75 min, quedando los tiempos fijos en las siguientes etapas: en la fase 2, 30 min y para la fase 3 y 4 10 min, en cada una.

En este ensayo, se evaluaron las variables que más frecuentemente se modifican en el análisis de grasa en carne i.e.: el efecto de tres tipos de solventes: éter de petróleo, éter dietílico, y cloroformo-metanol (en dos diferentes proporciones 2:1 ó 4:1); todos los solventes se evaluaron en dos tiempos de ebullición: 25 y 50 min, utilizando dos tamaños de muestra: 3 y 6 g. Siguiendo las recomendaciones del fabricante del equipo, la extracción con éteres se realizó a 100 °C y con cloroformo-metanol a 135 °C.

Las muestras utilizadas derivaron de una muestra compuesta formada por la homogeneización de tres (500 g cada una) diferentes lomos de cerdo (músculo *Longissimus dorsi*, cortados a la altura de la décima costilla; los músculos provenían de cerdos de un mismo origen, que fueron sacrificados a 105 kg de peso vivo con una edad de 160 días), las cuales fueron procesadas primero en un molino eléctrico de carne (Chef mate, 1HP; GFE, Dayton, OH, USA) con un cedazo de 1 mm de diámetro y posteriormente uniformizadas con ayuda de un procesador de alimentos (Oster Inspire, 60 Hz, 500W, Edo. Mex., Mex). De la carne resultante, se generó artificialmente otra muestra: 700 g fueron nuevamente mezclados con 14 g de grasa subcutánea dorsal. Finalmente, de cada grupo de muestras (con grasa añadida o sin añadir), se pesaron submuestras lo más cercanas a 3 ó a 6 g, las cuales fueron envueltas en película plástica transparente y fueron inmediatamente puestas en congelación (-20 °C) hasta su utilización.

Por el diseño del equipo de extracción (seis muestras en cada corrida), sólo es posible utilizar un tipo de solvente y un tiempo de ebullición, por lo que se trabajaron al mismo tiempo tres muestras de 3 g y 3 de 6 g. La unidad experimental consistió en cada una de las muestras analizadas (120) dentro de cada corrida (factor de bloque), por lo que se

ether, diethyl ether, and chloroform:methanol at two different ratios, 2:1 and 4:1. All solvents were evaluated using two boiling times as well (25 min and 50 min), and two different sample sizes (3 g and y 6 g). In accordance with equipment manufacturer, the extraction with the ethers was performed at 100 °C, while the extraction with the chloroform:methanol mixture was performed at 135 °C.

Samples were derived from a composite obtained by homogenizing three (500 g ea.) different pork loins (*Longissimus dorsi*) cut at the level of the 10th rib. All muscles corresponding to pigs from the same origin, slaughtered at 105 kg live weight, and 16 d of age. Meat samples were first processed using an electric meat grinder (Chef mate, 1HP; GFE, Dayton, OH, USA) with a 1 mm screen then homogenized using a food processor (Oster Inspire, 60 Hz, 500W, Edo. Mex., Mexico). From the resulting meat, another sample was artificially generated as follows: 700 g meat mixed with 14 g subcutaneous backfat. Finally, from each group of samples (with or without added fat) subsamples were weighed to about 3 or 6 g, wrapped in a transparent plastic film, and immediately frozen at -20 °C, until needed.

Given the extraction equipment design, which allowed for analyzing six samples per run, only one solvent type and one boiling time could be used. Therefore, three 3-g samples and three 6-g samples were extracted at a time. The experimental unit was each sample analyzed (n= 120) within each run (blocking factor), so that 36 observations were performed with both petroleum ether and diethyl ether, and 48 observations were performed with the chloroform:methanol mixtures (24 for the 2:1 ratio; and 24 for the 4:1 ratio). As far as the boiling time effect was concerned, 48 observations were performed using 25 min, and 72 observations were performed using 50 min.

For statistical data analysis, the MIXED (SAS)⁽¹⁰⁾ software was used. Given that only one solvent type could be used per run (blocking factor), both solvent and time were nested in the block, thus considered as a random variable. The statistical

contó con 36 observaciones para los éteres de petróleo y dietílico, mientras que se tuvieron 48 para las mezclas de cloroformo-metanol (24 para la proporción 2:1 y 24 para 4:1); para el efecto de tiempo de ebullición, se tuvieron 48 observaciones en 25 min y 72 observaciones en 50 min.

Para el análisis estadístico de los datos se empleó el proceso MIXED de SAS⁽¹⁰⁾. Dado que sólo un tipo de solvente se podía utilizar en cada corrida (factor de bloqueo), el solvente y el tiempo estuvieron anidados en el bloque y se consideró como una variable aleatoria; el modelo estadístico incluyó los efectos de solvente, tiempo (25 ó 50 min), tipo (con o sin grasa añadida) y tamaño de muestra (3 ó 6 g). Basados en los valores del AIC (criterio de información de Akaike) y en el BIC (criterio de información bayesiano de Schwarz) en el modelo se incluyeron las interacciones dobles entre solvente y tipo de muestra; solvente y tiempo; tamaño y tiempo; así como la triple interacción entre solvente, tamaño y tiempo. Los resultados que se presentan corresponden a los estimados de

model included the effects of solvent, time (25 or 50 min), sample type (with or without added fat) and sample size (3 or 6 g). Based on both Akaike's Information Criterion (AIC) and Schwarz's Bayesian Information Criterion (BIC) values, the model included three 2-way interactions (solvent x sample type; solvent x time; sample size x time) and one 3-way interaction (solvent x sample size x time). The results shown correspond to the least quadratic mean estimates and accompanied by the standard error of the mean.

Analysis results showed that the amount of fat extracted from each sample varied depending on the amount of backfat added (2.24 vs 3.22 ± 0.147 %; for 0 or 2 % added backfat, respectively $P < 0.01$), which corresponds to the average fat contents typically reported in the literature⁽¹¹⁾.

The effects of solvent type, sample size and boiling time are explained as a function of their 3-way interaction (Table 1; $P < 0.01$), showing that the total amount of fat collected increased as boiling

Cuadro 1. Efecto de la triple interacción entre el tipo de solvente, el tamaño de la muestra y el tiempo de ebullición sobre la extracción de grasa en carne de cerdo

Table 1. Effect of the 3-way (solvent type x sample size x boiling time) interaction on pork fat extraction

Solvent type	Sample size (n)	Boiling time (min)	Least quadratic mean (%) ^a
Petroleum ether	3	25	2.493
Petroleum ether	3	50	2.568
Petroleum ether	6	25	2.168
Petroleum ether	6	50	2.452
Diethyl ether	3	25	2.797
Diethyl ether	3	50	2.399
Diethyl ether	6	25	2.394
Diethyl ether	6	50	2.179
Chloroform-methanol, 2:1	3	25	2.469
Chloroform-methanol, 2:1	3	50	3.829
Chloroform-methanol, 2:1	6	25	2.516
Chloroform-methanol, 2:1	6	50	3.327
Chloroform-methanol, 4:1	3	25	2.862
Chloroform-methanol, 4:1	3	50	3.735
Chloroform-methanol, 4:1	6	25	1.832
Chloroform-methanol, 4:1	6	50	3.679

^a Standard error of the mean for the 3-way interaction = 0.2519 ($P < 0.01$).

las medias mínimo cuadráticas acompañadas del error estándar de la media.

En el análisis de la información se observó que la cantidad de grasa extraída de cada muestra varió en función de la cantidad de grasa dorsal añadida (2.24 vs 3.22 ± 0.147 %; respectivamente para 0 ó 2 % de grasa dorsal añadida; $P < 0.01$), lo cual corresponde con los promedios de grasa normalmente reportados en la literatura⁽¹¹⁾.

Los efectos del tipo de solvente, tamaño de la muestra y tiempo de ebullición, se explican en función de su triple interacción (Cuadro 1; $P < 0.01$), en ésta se observa que la cantidad total de grasa colectada aumentó con el tiempo de ebullición ($2.44 \pm$ vs 3.02 ± 0.150 %); respectivamente para 25 ó 50 min; ($P < 0.02$); sin embargo, mientras el tiempo de ebullición es irrelevante cuando se utilizan los solventes éter de petróleo y éter dietílico, cuando se utilizan las mezclas de cloroformo metanol la extracción se incrementa de 25 a 50 min en un 50 %. La consecuencia de aumentar el tamaño de la muestra de 3 a 6 g, es que consistentemente se reduce la cantidad de grasa recolectada por muestra en un 9 %, excepto cuando se utilizó la mezcla cloroformo metanol 4:1, donde la reducción en la extracción fue del 16 %, lo cual fue consecuencia de la pobre recuperación de grasa en las muestras con 6 g de grasa puestas en ebullición por sólo 25 min. En general, la cantidad de grasa extraída se redujo conforme aumentó el tamaño de la muestra (2.89 vs 2.57 ± 0.109 %; respectivamente para 3 ó 6 g). Esto posiblemente se explica en función de la superficie expuesta al solvente, *i.e.*: durante el proceso, la cantidad de solvente en contacto con la muestra es proporcionalmente mayor cuando el tamaño de la muestra es menor, mejorando por ende la extracción.

En la triple interacción, no se observó diferencia ($P > 0.05$) entre los diferentes solventes cuando el tiempo de ebullición fue de 25 min; sin embargo, la superioridad de las mezclas cloroformo metanol fue muy notoria cuando la ebullición duró 50 min, lo que resultó en una extracción promedio de 3.64 vs 2.40 de los éteres (50 % más con cloroformo metanol).

time increased ($2.44 \pm$ vs 3.02 ± 0.150 % for 25 or 50 min, respectively ($P < 0.02$)). Nevertheless, even though boiling time is irrelevant when petroleum ether and diethyl ether are used as solvents, extraction showed a 50 % increase (from 25 to 50 min), when the chloroform:methanol mixtures were used. Increasing sample size from 3 to 6 g consistently resulted in 9 % reduction in the amount of fat collected per sample. Fat extraction decreased in value (16 % decrease) when the 4:1 chloroform:methanol mixture was used on the 6 g samples, boiled for only 25 min. Generally, the amount of fat extracted decreased as sample size increased (2.89 vs 2.57 ± 0.109 % for 3 and 6 g, respectively). This can possibly be explained in terms of surface area of each sample exposed to the solvent, since during the process the amount of solvent in contact with the sample is proportionally higher as sample size decreases, thus improving extraction.

In the 3-way interaction, no difference ($P > 0.05$) was found among the different solvents when boiling time was 25 min. Even though, the superiority of chloroform:methanol mixtures was remarkable when boiled for 50 min, resulting in an average extraction of 3.64, as compared to 2.40 with the ethers (*i.e.*, 50 % higher with the chloroform:methanol mixture).

Fat extraction depended on the solvent x sample type interaction ($P < 0.04$). This was due to the fact that despite the chloroform:methanol mixture extracted 26 % more fat than ethers, the higher fat extraction obtained by changing sample type was different among the solvents (Table 2).

When the ethers were used, the difference between the normal sample and that with added fat was 68 %, while with the chloroform:methanol mixture a 22 % increase was obtained. This is possibly related with the fat type prevailing in each sample. The muscle tissue typically contains both phospholipids (polar compounds mainly associated with cell membranes), and acyl glycerides (neutral compounds mostly triglycerides or reserve lipids). In the sample with added fat, this added fat consisted of subcutaneous backfat, which includes reserve triglycerides and, therefore, it contained a lower proportion of polar fats.

La extracción de grasa dependió de una interacción entre el solvente y el tipo de muestra ($P < 0.04$). Esto se debe a que a pesar de que el cloroformo metanol extrajo 26 % más grasa que los éteres, el incremento en la extracción de grasa que se obtuvo al cambiar el tipo de muestra fue diferente entre solventes (Cuadro 2).

Cuando se utilizó éter, la diferencia entre la muestra normal y la que tenía grasa añadida, fue del 68 %, mientras que cuando se utilizó cloroformo metanol, el incremento fue del 22 %. Esto posiblemente se relacione con el tipo de grasa que predominó en cada muestra. Normalmente el tejido muscular contiene tanto fosfolípidos (compuestos polares asociados principalmente con membranas), como acilglicéridos (compuestos neutros, principalmente triglicéridos o lípidos de reserva). En la muestra con grasa añadida, ésta se adicionó con grasa subcutánea dorsal, la cual está formada principalmente por triglicéridos de reserva, y por lo tanto, contenía una menor proporción de grasas polares.

Comúnmente, los éteres se utilizan como solventes orgánicos que disuelven compuestos no polares (por ejemplo, triglicéridos), pero son poco eficientes con los lípidos polares (por ejemplo, fosfolípidos), lo que explica por un lado el porqué la extracción con los éteres resulta en una menor cantidad de grasa (presumiblemente, no se extraen todos los fosfolípidos) y también porque, en muestras con mayor cantidad de grasa neutra tienden a ser más eficientes (puesto que extraen una mayor proporción de grasa).

Contrario a los éteres, las mezclas de cloroformo-metanol se caracterizan por ser una combinación de un solvente no polar (cloroformo) y uno polar (metanol), lo que permite la extracción de grasas tanto no polares como de aquellas polares (principalmente fosfolípidos asociados a membranas celulares), por lo que su uso, permitió colectar 27 % más grasa que con los éteres y su acción fue 50 % más eficiente al aumentar el tiempo de extracción. Al considerar que la cantidad de grasa obtenida con las diferentes mezclas de cloroformo-metanol, no presenta diferencias significativas ($P > 0.05$),

Ethers are typically used as organic solvents for non-polar compounds (i.e., triglycerides), but ethers have reduced efficiency in the face of polar lipids (i.e., phospholipids). On one side, this explains why the ether extraction resulted in a lower amount of fat (presumably not all phospholipids are extracted) and also because in samples with higher neutral fat contents, ethers tend to be more efficient (since they extract a higher proportion of fat).

Contrary to ethers, chloroform:methanol mixtures represent combinations of a non-polar solvent (chloroform) and a polar solvent (methanol), which allows for the extraction of both non-polar and polar fats (mostly cell membrane-associated phospholipids). Therefore, the chloroform:methanol mixtures collected 27 % more fat than ethers, and their action was 50 % more efficient as extraction time increased. Considering that the amount of fat extracted with the different chloroform:methanol mixtures showed no significant differences ($P > 0.05$), using a 2:1 chloroform:methanol ratio is recommended due to both environmental and economic reasons.

All techniques showed similar repetitiveness, with a mean standard deviation < 1 % among repetitions

Cuadro 2. Efecto de la interacción entre el solvente y el tipo de muestra sobre la extracción de grasa en carne de cerdo

Table 2. Effect of the solvent x sample type interaction on pork fat extraction

Solvent type	Sample type	Least quadratic mean ^a
Petroleum ether	Normal	1.593
Petroleum ether	With added fat	3.248
Diethyl ether	Normal	2.038
Diethyl ether	With added fat	2.846
Chloroform-methanol, 2:1	Normal	2.877
Chloroform-methanol, 2:1	With added fat	3.193
Chloroform-methanol, 4:1	Normal	2.595
Chloroform-methanol, 4:1	With added fat	3.459

^a Standard error of the mean for the interaction= 0.2403; ($P < 0.04$).

tanto por aspectos ecológicos como económicos, se recomienda utilizar la proporción de solventes 2:1 (cloroformo:metanol).

Las técnicas mostraron similar repetitividad en función de que todas tuvieron una desviación estándar promedio entre repeticiones menor al 1 %, por lo que en este trabajo la decisión sobre cuál técnica es mejor, se sustenta más en la eficiencia para la extracción de grasa. Por lo que se concluye que la metodología más eficiente para la medición de grasa en lomos de cerdo se obtuvo con un tamaño de muestra de 3 g, con una proporción de solventes cloroformo-metanol 2:1, y con un tiempo de ebullición de 50 min.

Esto implica que la cantidad de grasa obtenida varía significativamente entre diferentes técnicas, lo que es una observación relevante para los investigadores involucrados en el área de las ciencias de la carne, y sugiere que se deberá tener extremo cuidado en la interpretación de datos analizados con diferentes metodologías.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo parcialmente financiado con recursos del CONACYT # 51323, 109127 y con apoyo del PAIEPEME A.C.

LITERATURA CITADA

- Gómez MF. Determinación de la calidad de la carne de cerdo comercializada en el Valle de Toluca, Estado de México [tesis licenciatura]. Estado de México, México: Universidad Autónoma del Estado de México; 2009.
- Brewer MS, Zhu LG, McKeith FK. Marbling effects on quality characteristics of pork loin chops: consumer purchase intent, visual and sensory characteristics. *Meat Sci* 2001;59(2):153-163.
- Novakofski J, Park S, Bechtel PJ, McKeith FK. Composition of cooked pork chops: Effect of removing subcutaneous fat before cooking. *J Food Sci* 1989;54:15.
- Blanchard PJ, Willis MB, Warkup CC, Ellis M. The influence of carcass backfat and intramuscular fat level on pork eating quality. *J Sci Food Agric* 2000;80:145-151.

in all cases. Therefore, in this study judging the best technique was mostly based on fat extraction efficiency. It was concluded that the most efficient methodology for fat extraction in pork loins included a 3-g sample size, a 2:1 chloroform:methanol solvent, and a 50 min boiling time.

This implies that the amount of fat obtained varies significantly among the different techniques, and this is a relevant remark for meat science researchers, suggesting that extreme care must be taken at the time of interpreting the results obtained from different assay methodologies.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was partially funded by CONACYT # 51323, 109127, and with the support of PAIEPEME A.C.

End of english version

- Fernandez X, Monin G, Talmant A, Mourot J, Lebreton B. Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat 2. Consumer acceptability of m. *longissimus lumborum*. *Meat Sci* 1999;53:67-72.
- Cameron ND, Enser M, Nute GR, Whittington FM, Penman JC, Fisker AC *et al*. Genotype with nutrition interaction on fatty acid composition of intramuscular fat and the relationship with flavour of pig meat. *Meat Sci* 2000;55(2):187-195.
- Cisneros F, Ellis M, Baker DH, Easter RA, McKeith FK. The influence of short-term feeding of amino acid-deficient diets and high dietary leucine levels on the intramuscular fat content of pig muscle. *Anim Sci* 1996;63(5):17-522.
- Katsumata M, Kobayashi S, Matsumoto M. Reduced intake of dietary lysine promotes accumulation of intramuscular fat in the *Longissimus dorsi* muscles of finishing pigs. *J Anim Sci* 2005;76(3):237-244.
- AOAC. Official methods of analysis. Official Method 991.36, Fat (Crude) in Meat and Meat Products. 17th ed. Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists. 2000.
- SAS. SAS User's guide: statistics (version 9.1.3). SAS Institute Inc. SAS OnlineDoc® 9.1.3. Cary, NC: SAS Institute Inc. 2004.
- Wright LI, Scanga JA, Belk KE, Engle TE, Tatum JD, Person RC *et al*. Benchmarking value in the pork supply chain: Characterization of US pork in the retail marketplace. *Meat Sci* 2005;71:451-463.

