

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 473 270**

51 Int. Cl.:

G01N 33/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.06.2011 E 11730927 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.03.2014 EP 2588855**

54 Título: **Procedimiento de evaluación de la cantidad de metano producida por un rumiante denominado "para carne"**

30 Prioridad:

29.06.2010 FR 1055243

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

04.07.2014

73 Titular/es:

**VALOREX (100.0%)
La Messayais
35210 Combourtille, FR**

72 Inventor/es:

**WEILL, PIERRE;
CHESNEAU, GUILLAUME y
GUERIN, AUDE**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 473 270 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de evaluación de la cantidad de metano producida por un rumiante denominado "para carne".

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de evaluación de la cantidad de metano asociada a la cría de rumiantes criados por su carne que utiliza la composición en ácidos grasos de los lípidos de las carnes.

El metano es un gas de efecto invernadero que contribuye al calentamiento climático.

10 Su poder de calentamiento es 21 veces el del dióxido de carbono. Por lo tanto, según los expertos, el metano contribuye en un 20% al conjunto de los gases de efecto invernadero que llevan al calentamiento climático.

La mitad de este metano procede de la agricultura (es decir un 10% de los gases de efecto invernadero a nivel mundial).

15 Y la mayor parte del metano de origen agrícola (un 70% en Europa) es metano entérico emitido por los animales de cría durante su digestión.

Los rumiantes contribuyen en Francia en un 98% a este aporte de metano entérico.

20 En efecto, los procesos de fermentación en los rumiantes conducen a fuertes emisiones de metano.

Aproximadamente la mitad de este metano entérico de los rumiantes procede de las hembras lecheras y la otra mitad, de los rebaños criados específicamente para la producción de carne.

25 Por lo tanto, numerosos expertos reclaman disminuir el consumo de carnes procedentes de rumiantes (principalmente de buey) mientras que otros expertos reclaman elegir modos de producción menos emisores de metano.

30 Para consolidar modos de producción "menos emisores de metano", es necesario disponer de mediciones de metano vinculadas al modo de producción.

Según los tipos de producción, la cantidad de metano emitida por kilo de carne producida puede variar de 1 a 6.

35 Los procedimientos existentes de evaluación de esta cantidad de metano producida por kilo de carne son difíciles de realizar.

40 En efecto, se basan en mediciones en granjas experimentales (procedimientos de cámara calorimétrica o medición indirecta denominada "con hexafluoruro de azufre") que resultan imposibles de poner en práctica de manera sistemática.

45 Otros procedimientos utilizan unas ecuaciones de "predicción" que comprenden, para ser precisas, numerosos datos individuales específicos de los animales productores de carne, tales como su edad, su velocidad de crecimiento, su peso, la cantidad de ración ingerida durante la vida y la composición de esta ración en cada fase de su vida.

En todos los casos, a día de hoy, resulta imposible conocer la cantidad de metano emitida durante la producción de un kilogramo de carne, si no se dispone de datos precisos sobre el animal del que procede esta carne.

50 El presente solicitante ha solicitado una patente francesa (FR 2 933 191) relativa a un procedimiento de evaluación del metano producido por litro de leche de vacas lecheras que utiliza un procedimiento rápido que relaciona la composición en ácidos grasos de la leche con la producción de metano.

55 En este contexto, la problemática es relativamente simple para las vacas lecheras ya que la relación entre la cantidad emitida diariamente por la vaca y la cantidad de ácidos grasos presentes diariamente en la leche es una relación directa.

Por otro lado, las tomas de muestras de la leche se efectúan en un animal vivo cuyo rendimiento se conoce.

60 Por lo tanto, a día de hoy, todavía existe la necesidad no satisfecha de un procedimiento que permita de evaluar la "huella de metano" de una carne y, como consecuencia, orientar a los productores hacia procedimientos respetuosos de las limitaciones asociadas al calentamiento climático.

La presente invención pretende responder a esta demanda.

65 Por lo tanto, el objeto de la invención se refiere a un procedimiento de evaluación de la cantidad de metano producida por un rumiante denominado "para carne", tal como un bovino, es decir un animal criado y después

matado para la comercialización de su carne, caracterizado porque consiste en determinar la cantidad de por lo menos un ácido graso AG contenido en un tejido de referencia, a saber, un músculo o un tejido adiposo, extraído de dicho rumiante muerto (en g de AG/kg de tejido) y en calcular dicha cantidad de metano (en g de CH₄/kg de carne del animal) según una ecuación que es función de dicha cantidad de dicho AG, de la categoría de dicho animal, de su edad y de su peso, determinándose estos tres últimos criterios en el momento de su muerte, escribiéndose dicha ecuación como:

$$\text{CH}_4 \text{ (g/kg de carne del animal)} = \left[\left[\left(\text{Edad en meses} \right) * \text{Coef 1} \right] + \text{Coef 2} \right] * 1000 * \text{Tasa de lípidos (en \%)} * \text{Contenido en AG (en \% de lípidos totales)} * 1000 / \text{Peso del animal (en kg de carne)},$$

ecuación en la que:

- los coeficientes Coef 1 y Coef 2 son unos números cuyo valor es función de la naturaleza del tejido de referencia y de la categoría del animal.

Por lo tanto, gracias a este procedimiento, se puede medir esta "huella de metano" de una carne de manera rápida, poco costosa y sistemática, disponiendo solamente de algunos elementos, a saber:

- la edad del animal del que procede el tejido y su categoría (buey, ternera, vaca, etc.),
- una muestra de tejido de este animal (muestra de músculo denominado dorsal largo (*longissimus dorsi*), por ejemplo).

La edad del animal figura siempre entre los datos de trazabilidad que acompañan a las canales de carne.

La muestra de tejido está destinada a una medición del contenido en por lo menos un ácido graso de los lípidos de esta muestra.

Se observará que numerosos datos bibliográficos relacionan los mecanismos de la metanogénesis ruminal con los de la lipogénesis en el hígado y el tejido adiposo.

Además, se dispone de datos experimentales que relacionan el modo de producción de los animales criados por su carne (tipo de cría y composición de la ración) con la composición lipídica de las carnes, en particular datos relativos al:

- i. porcentaje de lípidos en el trozo considerado por extracción con éter;
- ii. perfil en ácidos grasos de estos lípidos medido por cromatografía en fase gaseosa o por otros procedimientos.

Por último, una base de datos permite predecir el contenido en ácidos grasos minoritarios a partir de determinados ácidos grasos mayoritarios y de grupos de ácidos grasos en muestras de carnes o de tejidos adiposos procedentes de rumiantes.

Según otras características ventajosas y no limitativas de este procedimiento:

- dicho tejido de referencia es el músculo *longissimus dorsi* (dorsal largo);
- dicha determinación de la cantidad de AG se realiza por análisis directo del tejido de referencia;
- dicha determinación de la cantidad de AG se realiza por análisis de otro tejido, y después por deducción de la cantidad de AG de dicho músculo de referencia mediante una ecuación de predicción;
- dicho AG es el ácido palmítico C16:0;
- dicho otro tejido se elige de entre la babilla, la falda y el redondo y la cantidad de ácido palmítico en el *longissimus dorsi* (C16:0_{LD}) viene dada por una u otra de las siguientes ecuaciones:

$$\text{C16:0}_{\text{LD}} = 0,884 * \text{C16:0}_{\text{babilla}} + 2,240 \quad (r^2=0,855, n=48, p<0,001)$$

$$\text{C16:0}_{\text{LD}} = 1,053 * \text{C16:0}_{\text{falda}} + 1,076 \quad (r^2=0,78, n=67, p<0,001)$$

$$\text{C16:0}_{\text{LD}} = 0,948 * \text{C16:0}_{\text{redondo}} + 2,095 \quad (r^2=0,70, n=25, p<0,001)$$

en las que C16:0_{babilla}, C16:0_{falda} y C16:0_{redondo} son los contenidos en ácido palmítico de los tejidos correspondientes, r es el coeficiente de correlación, n es el número de muestras sometidas a prueba y p el índice de significancia.

- dicho AG es diferente del ácido palmítico, pero está muy correlacionado con el mismo, con un umbral de significancia p inferior a 0,01;
- dichos coeficientes 1 y 2 presentan los siguientes valores:

5

	Coef 1	Coef 2
Novillo	1,511 +/- 0,506	-13,782 +/- 5,0615
Tenera	0,555 +/- 0,1905	-4,807 +/- 1,907
Buey	0,885 +/- 0,278	-7,522 +/- 2,779
Vaca nodriza	0,582 +/- 0,235	0

- dichos coeficientes presentan los siguientes valores:

	Coef 1	Coef 2
Novillo	1,507	-13,792
Tenera	0,556	-5,108
Buey	0,8848	-7,552
Vaca nodriza	0,582	0,000

10 En el conjunto de la presente solicitud, los siguientes términos se definen tal como se explica a continuación.

- Tenera: hembra no que ha tenido terneros;
- Vaca nodriza: hembra que ha tenido por lo menos un ternero y cuya leche ha servido para alimentarlo;
- Novillo: macho no castrado de menos de 2 años;
- Buey: macho castrado de más de 2 años.

15

Otras características y ventajas de la invención se pondrán de manifiesto con la lectura de la descripción detallada siguiente de determinados modos de realización.

20 La problemática particular de los rumiantes y, en particular, de los bovinos, criados por su carne es la siguiente.

Durante los fenómenos de rumia, los hidratos de carbono presentes en las raciones de los rumiantes son fermentadas por las poblaciones de microbios presentes en la panza.

25 Los poliósidos vegetales de las raciones se degradan para dar osas que se fermentan entonces con producción de ácidos orgánicos (ácidos grasos volátiles o AGV), de hidrógeno y de dióxido de carbono.

En la panza coexisten dos vías principales:

30 i. La vía que desemboca en la formación de ácido acético (abreviado C2 por los 2 átomos de carbono) y de ácido butírico (abreviado C4 por los 4 átomos de carbono).

Esta vía de fermentación produce hidrógeno.

35 Y el hidrógeno producido se evacua a continuación en gran parte en forma de metano (CH₄) durante la eructación de los rumiantes.

ii. La vía que desemboca en la formación de ácido propiónico (abreviado C3 por los 3 átomos de carbono).

40 Esta vía, por el contrario, consume hidrógeno presente en la panza.

Por lo tanto, la producción de metano es un fenómeno fisiológico, asociado a los procesos de fermentación microbiana en la panza de los animales poligástricos.

45 Se sabe desde hace tiempo que el equilibrio de estas dos vías es muy variable en función de la alimentación de los animales. Por lo tanto, la composición de la ración de los animales orienta hacia vías de fermentación diferentes:

- consumidoras de hidrógeno y por lo tanto reductoras de la producción de metano para la vía C3; o
- productoras de hidrógeno, por lo tanto responsables de la producción de metano para las vías C2 y C4.

50

Se deben tener en cuenta numerosos factores alimentarios para predecir una orientación hacia las vías C2 y C4 o hacia la vía C3. Se pueden citar la fibrosidad de la ración, la cantidad de concentrados, el contenido en celulosa, el contenido en almidón, el contenido en lípidos, etc.

55 Entre los lípidos presentes en la ración de los rumiantes, un ácido graso poliinsaturado de la familia n-3 u omega 3,

el ácido alfa-linolénico (nomenclatura C18:3 n-3) ocupa un lugar aparte por diversos motivos:

- 5 - Es el principal ácido graso de los forrajes de pasto (hasta el 70% de los ácidos grasos, AG, para hierba de primavera).
- Comprende 3 insaturaciones que se hidrogenan en gran parte en la panza, consumiendo por lo tanto una pequeña fracción del hidrógeno producido por la vía C2 y C4 y produciendo unos compuestos intermedios de la biohidrogenación y ácido esteárico (C18:0).
- 10 - Su aporte en los regímenes orienta las fermentaciones hacia más C3 y menos C2 y C4.
- Desde hace más de 30 años, una abundante bibliografía indica que su adición en los regímenes reduce la cantidad de metano producido por los rumiantes en condiciones experimentales (cámara calorimétrica).
- 15 - El mecanismo de esta reducción de metano pasa por un efecto tóxico de este ácido graso (y/o de algunos de sus derivados procedentes de la biohidrogenación en la panza) sobre algunos microbios de la panza implicados en la producción de hidrógeno, y por lo tanto en las primeras etapas de la metanogénesis.
- 20 - Por último, el ácido alfa-linolénico omega 3 es un ácido graso denominado "esencial e indispensable" para los animales, ya que su síntesis utiliza unas enzimas (delta 12 y delta 15 desaturasas) que sólo están presentes en el reino vegetal. Si este AG se encuentra en la carne, procede necesariamente de la alimentación.

25 Por lo tanto, si se encuentra este ácido graso (o sus derivados) en la carne, se podría considerar como el marcador de prácticas alimentarias que desfavorecen la producción de metano. Dado que estas prácticas alimentarias favorecen la vía C3 consumidora de hidrógeno en detrimento de C2 y C4, vías productoras de hidrógeno y por lo tanto de CH₄.

30 La lipogénesis es la síntesis de lípidos (y particularmente de ácidos grasos) a partir de precursores que son esencialmente unos glúcidos en los animales monogástricos y esencialmente el ácido graso volátil (AGV) acético (C2) en los rumiantes.

Por lo tanto, el elemento indispensable en la síntesis de los lípidos de rumiantes criados por la carne es el ácido acético (C2) cuya producción ruminal va acompañada de emisión de CH₄.

35 Los ácidos grasos presentes en los tejidos de los rumiantes pueden presentar dos orígenes, a saber:

- endógenos, cuando proceden de la lipogénesis a partir del precursor acético (C2); se trata de ácidos grasos saturados o monoinsaturados;
- 40 - exógenos, cuando proceden de la alimentación y se incorporan en los triglicéridos o en otras fracciones lipídicas (fosfolípidos).

45 Entre éstos, se cuentan en particular los ácidos grasos poliinsaturados exclusivamente exógenos (ya que ningún animal posee las enzimas necesarias para su síntesis).

Por lo tanto, el ácido linoléico C18:2 n-6 y el ácido acético, AGV en C2, se encuentran en la intersección de los mecanismos de la metanogénesis y de la lipogénesis.

50 El ácido alfa-linolénico, dado que su presencia (o la de sus derivados omega 3) en los lípidos del rumiante es el indicio de su presencia en la ración, y por lo tanto de una reducción de la producción de ácido acético y de metano.

El ácido acético, dado que su presencia es necesaria para la síntesis de la mayor parte de los ácidos grasos saturados por una parte, y dado que su producción va siempre acompañada de producción de metano.

55 El ácido palmítico procede en su mayoría de la síntesis endógena a partir del precursor C2. La cantidad de ácido palmítico endógeno está vinculada muy directamente con una disponibilidad de precursor ácido acético y por lo tanto con una producción ruminal de hidrógeno y después de metano.

60 Por lo tanto, la reducción del contenido en ácido palmítico en las carnes está siempre relacionada con una reducción de las emisiones de metano, si el ácido alfa-linolénico (principal ácido graso de las raciones de los rumiantes) es el ácido graso predominante de las raciones.

Los lípidos de las carnes de los rumiantes son:

- 65 - o bien unos lípidos estructurales, constitutivos de las membranas de las células del músculo y de los demás órganos;

- o bien unos lípidos de reserva, presentes en los triglicéridos en un tejido adiposo interno (veteado de las carnes) o externo a los músculos (u otros órganos).

5 El tejido adiposo es una "reserva de energía" para el animal, por lo tanto los ácidos grasos (AG) del tejido adiposo se movilizan regularmente durante el envejecimiento del animal. Otros AG procedentes de la alimentación (endógenos por medio del C2) o exógenos acaban incorporándose a su vez en el tejido adiposo.

10 La cantidad de lípidos presente en un músculo dado refleja en todos los casos la intensidad de los mecanismos de lipogénesis endógena (y por lo tanto de producción de C2 y, como consecuencia, de CH4) pero también de la edad y del historial del animal, es decir de la intensidad de sus mecanismos de renovación del tejido adiposo.

15 La cantidad y la naturaleza de los ácidos grasos presentes en la carne de un animal de una edad conocida es en sí misma función de la naturaleza de la alimentación de este animal. Por lo tanto es el reflejo de la producción de metano de este animal a lo largo de su vida.

Ejemplos de puesta en práctica del procedimiento

20 Tras la muerte del animal, se efectúa una extracción de una muestra de carne de manera normalizada, por ejemplo, la extracción de una muestra de músculo al nivel de la 6ª costilla.

Entonces se analiza la muestra extraída para conocer:

- su tasa de lípidos;
- el perfil en ácidos grasos de sus lípidos totales.

Este análisis se efectúa mediante extracción con éter para los lípidos totales y por cromatografía en fase gaseosa para los ácidos grasos.

30 Por otro lado, los datos de trazabilidad clásica indicarán la edad del animal, su sexo y su raza.

Por lo tanto, se dispone de los siguientes datos (ejemplos):

Animal 1: Músculo dorsal largo

35 Tipo de animal: novillo de raza limousine (raza para carne).
 Edad: 17 meses.
 Peso: 400 kg de carne (= peso en canal en kg * rendimiento en carne en %).
 Tasa de lípidos de la muestra: 2,5% (en peso).
 40 Contenido en C16:0: 25,0% (de los AG totales).

Entonces, se calcula la cantidad de metano emitida como sigue:

$$45 \text{ CH4 (g/kg de carne) = } \frac{[(\text{Edad en meses}) * \text{Coef 1}] + \text{Coef 2}] * 1000 * \text{Tasa de lípidos (en \%)} * \text{Contenido en C16:0 (en \% de los AG totales)}}{\text{Peso del animal (en kg de carne)}}$$

Para los novillos de raza para carne, los coeficientes Coef 1 y Coef 2 presentan los siguientes valores: Coef 1 = 1,511 y Coef 2 = -13,782.

50 Lo que da un valor: CH4 (g/kg de carne) = 185 g.

Animal 1: Músculo de la falda

55 Tipo de animal: novillo de raza limousine (raza para carne).
 Edad: 17 meses.
 Peso: 400 kg de carne (= peso en canal en kg * rendimiento en carne en %).
 Tasa de lípidos de la muestra: 7,5% (en peso).
 Contenido en C16:0: 24,5% (de los AG totales).
 Cantidad de metano emitida:

$$60 \text{ CH4 (g/kg de carne) = } \frac{[(\text{Edad en meses}) * \text{Coef 1}] + \text{Coef 2}] * 1000 * \text{Tasa de lípidos (en \%)} * \text{Contenido en C16:0 (en \% de AG totales)}}{\text{Peso del animal (en kg de carne)}}$$

Para los novillos de raza para carne: Coef 1 = 0,514 y Coef 2 = -4,70.

65 CH4 (g/kg de carne) = 185 g.

Animal 2: Músculo dorsal largo

5 Tipo de animal: novillo de raza limousine (raza para carne).
 Edad: 17 meses.
 Peso: 400 kg de carne (= peso en canal en kg * rendimiento en carne en %).
 Tasa de lípidos de la muestra: 2,5% (en peso).
 Contenido en C16:0: 23,0% (de los AG totales).
 Cantidad de metano emitida:

10
$$\text{CH4 (g/kg de carne)} = \frac{[[[(\text{Edad en meses}) * \text{Coef 1}] + \text{Coef 2}] * 1000 * \text{Tasa de lípidos (en \%)} * \text{Contenido en C16:0 (en \% de AG totales)}] * 1000}{\text{Peso del animal (en kg de carne)}}$$

15 Para los novillos de raza para carne: Coef 1 = 1,511 y Coef 2 = -13,782.

CH4 (g/kg de carne) = 170 g.

Animal 2: Músculo de la falda

20 Tipo de animal: novillo de raza limousine (raza para carne).
 Edad: 17 meses.
 Peso: 400 kg de carne (= peso en canal en kg * rendimiento en carne en %).
 Tasa de lípidos de la muestra: 7,5% (en peso).
 Contenido en C16:0: 22,5% (de los AG totales).
 Cantidad de metano emitida:

25
$$\text{CH4 (g/kg de carne)} = \frac{[[[(\text{Edad en meses}) * \text{Coef 1}] + \text{Coef 2}] * 1000 * \text{Tasa de lípidos (en \%)} * \text{Contenido en C16:0 (en \% de AG totales)}] * 1000}{\text{Peso del animal (en kg de carne)}}$$

30 Para los novillos de raza para carne: Coef 1 = 0,514 y Coef 2 = - 4,70.

CH4 (g/kg de carne) = 170 g.

35 A partir de ensayos y de datos de la bibliografía, se han calculado dichos coeficientes para cada categoría de animal y cada músculo.

Preferentemente, los coeficientes para el músculo dorsal largo presentan los siguientes valores:

	Coef 1	Coef 2
Novillo	1,511	-13,782
Ternera	0,555	-4,807
Buey	0,885	-7,522
Vaca nodriza	0,582	0,000

40 Para el músculo de la falda, presentan preferentemente los siguientes valores:

	Coef 1	Coef 2
Novillo	0,5142	-4,700
Ternera	0,3356	-2,9042
Buey	0,3011	-2,5596
Vaca nodriza	0,2671	0,000

45 A modo de ejemplo se facilitan a continuación las ecuaciones de predicción utilizadas cuando el músculo sometido a prueba no es el dorsal largo y el ácido graso es el ácido palmítico. Este otro tejido se puede seleccionar de entre la babilla, la falda y el redondo y la cantidad de ácido palmítico en el *longissimus dorsi* (C16:0_{LD}) viene dada por una u otra de las siguientes ecuaciones:

50
$$\begin{aligned} \text{C16:0}_{LD} &= 0,884 * \text{C16:0}_{\text{babilla}} + 2,240 \quad (r^2=0,855, n=48, p<0,001) \\ \text{C16:0}_{LD} &= 1,053 * \text{C16:0}_{\text{falda}} + 1,076 \quad (r^2=0,78, n=67, p<0,001) \\ \text{C16:0}_{LD} &= 0,948 * \text{C16:0}_{\text{redondo}} + 2,095 \quad (r^2=0,70, n=25, p<0,001) \end{aligned}$$

en las que C16:0_{babilla}, C16:0_{falda} y C16:0_{redondo} son los contenidos en ácido palmítico de los tejidos correspondientes, r es el coeficiente de correlación, n es el número de muestras sometidas a prueba y p el umbral de significancia.

55 Además, se proporciona a continuación una matriz de correlación (también denominada de predicción) que permite

calcular, mediante una ecuación de tipo $Y=aX+b$, con $Y=C16:0$ (músculo i) y X =cantidad de otro ácido graso (mismo músculo i), la cantidad de ácido palmítico de ese músculo. En este caso, el músculo i es el "dorsal largo".

Tabla 1

5

Músculo = Dorsal largo sin tratar (mg/100 g)									
X	Y	Media	D.E.	R	R ²	valor P	N=	a=	b=
C16:0		789,37	479,66	0,00	0,00	0,00	0	0,000	0,000
AGS		1554,95	837,47	0,98	0,97	0,00	208	0,563	-86,562
AGMI		1334,78	807,28	0,98	0,96	0,00	208	0,584	10,441
C18:1		1201,25	715,86	0,98	0,96	0,00	208	0,656	1,199
AGPI		189,73	63,53	0,54	0,29	0,00	208	4,050	21,054
AGPI n-3		34,10	18,36	0,47	0,22	0,00	208	12,309	369,697
AGPI n-3-LC		13,88	8,89	0,34	0,11	0,00	208	18,152	537,509
CLA		9,40	7,85	0,72	0,52	0,00	208	44,247	373,670
ALA		20,22	11,44	0,49	0,24	0,00	208	20,754	369,742
C14:0		77,52	51,75	0,98	0,96	0,00	208	9,058	87,178
C15:0iso		5,69	3,53	0,87	0,76	0,00	208	118,806	113,845
C15:0		13,18	6,88	0,91	0,82	0,00	208	63,306	-45,021
C16:0iso		7,29	3,94	0,76	0,57	0,00	208	92,233	117,169
C16:1		90,04	68,57	0,95	0,90	0,00	208	6,637	191,789
C17:0iso		12,53	6,50	0,92	0,84	0,00	208	67,753	-59,374
C16:0		789,37	479,66	0,00	0,00	0,00	0	0,000	0,000
C17:0		31,35	16,62	0,93	0,86	0,00	208	26,840	-51,935
C17:1		18,66	11,95	0,96	0,91	0,00	208	38,366	73,322
C18:0iso		5,08	2,88	0,76	0,58	0,00	208	126,523	147,296
C18:0		565,84	273,92	0,88	0,77	0,00	208	1,539	-81,489
C18:2		29,13	17,45	0,66	0,44	0,00	208	18,273	257,130
C18:3		3,32	1,80	0,92	0,84	0,00	137	255,259	45,215
C17:0anteiso		20,22	9,99	0,86	0,73	0,00	207	41,213	-43,617
C15:0anteiso		7,43	3,81	0,79	0,62	0,00	207	99,460	52,245
C14:1		11,56	11,03	0,87	0,76	0,00	207	37,726	356,361
C14:0iso		2,96	1,71	0,92	0,85	0,00	102	245,730	38,147
C12:0		3,02	1,68	0,97	0,94	0,00	190	276,593	-58,359
C10:0		2,64	1,69	0,83	0,69	0,00	107	218,752	155,799

Por otro lado, en las tablas 2 a 4 siguientes se proporcionan las matrices de correlación que permiten calcular la cantidad de ácido palmítico de ese músculo i, mediante el acoplamiento de una ecuación de tipo $Y=aX+b$, con $Y=C16:0$ (músculo j) y X =cantidad de otro ácido graso (mismo músculo j), y una ecuación de predicción del C16:0 del músculo i a partir del C16:0 del músculo j.

10

En este caso, el músculo i es el dorsal largo y el músculo j es respectivamente la babilla, la falda y el redondo.

Tabla 2

15

Músculo = BABILLA (mg/100 g)									
X	Y	Media	D.E.	R	R ²	valor P	N=	a=	b=
C16:0		603,75	350,03	0,00	0,00	0,00	0	0,000	0,000
AGS		1179,37	631,01	0,99	0,99	0,00	48	0,551	-46,069
AGMI		1052,97	657,66	0,96	0,92	0,00	48	0,511	65,408
C18:1		933,58	580,92	0,96	0,91	0,00	48	0,576	65,854
AGPI		184,95	81,65	0,67	0,45	0,00	48	2,887	69,750
AGPI n-3		25,75	10,26	0,59	0,35	0,00	48	20,178	84,225
AGPI n-6		127,50	59,68	0,57	0,33	0,00	48	3,359	175,542
AGPI n-3-LC		11,02	3,82	0,50	0,25	0,00	48	45,809	98,863
CLA		5,62	4,02	0,86	0,74	0,00	48	75,009	181,942
ALA		14,73	7,66	0,54	0,30	0,00	48	24,854	237,775
LA		108,15	51,69	0,59	0,34	0,00	48	3,972	174,199
C14:0		67,67	44,32	0,98	0,97	0,00	48	7,776	77,544
C15:0iso		3,60	2,12	0,80	0,64	0,00	48	132,329	126,805
C15:0		12,51	6,63	0,92	0,85	0,00	48	48,655	-4,782

ES 2 473 270 T3

Músculo = BABILLA (mg/100 g)									
X	Y	Media	D.E.	R	R ²	valor P	N=	a=	b=
C16:0iso		6,85	3,57	0,85	0,73	0,00	48	83,802	29,347
C16:1		76,11	50,31	0,98	0,96	0,00	48	6,802	86,044
C17:0iso		10,88	5,60	0,85	0,73	0,00	48	53,239	24,653
C17:0		27,53	16,61	0,86	0,73	0,00	48	18,054	106,660
C17:1		17,45	12,07	0,87	0,76	0,00	48	25,304	162,317
C18:0iso		5,16	3,13	0,87	0,76	0,00	48	97,778	99,249
C18:0		394,37	190,99	0,94	0,89	0,00	48	1,729	-78,148
C18:2		24,16	15,70	0,66	0,44	0,00	48	14,809	246,016
C18:2cj		5,62	4,02	0,86	0,74	0,00	48	75,009	181,942
C18:3		2,00	1,50	0,61	0,37	0,00	46	142,480	314,902
C17:0anteiso		22,08	14,68	0,80	0,64	0,00	48	19,121	1181,574
C15:0anteiso		6,86	3,77	0,83	0,69	0,00	48	76,782	76,753
C14:1		11,93	10,06	0,93	0,87	0,00	48	32,377	217,450
C14:0iso		2,02	1,20	0,86	0,73	0,00	22	217,297	155,501
C12:0		2,41	1,33	0,98	0,96	0,00	48	257,569	-17,080
C10:0		2,22	1,45	0,92	0,84	0,00	44	222,915	107,146

Tabla 3

Músculo = FALDA (mg/100 g)									
X	Y	Media	D.E.	R	R ²	valor P	N=	a=	b=
C16:0		1791,78	807,61	0,00	0,00	0,00	0	0,000	0,000
AGS		4310,14	1731,80	0,98	0,97	0,00	70	0,459	-184,254
AGMI		3092,75	1456,98	0,94	0,89	0,00	70	0,522	177,956
C18:1		2845,68	1341,17	0,94	0,88	0,00	70	0,566	180,761
AGPI		494,93	152,88	0,51	0,26	0,00	70	2,708	451,492
AGPI n-3		69,11	27,72	0,46	0,21	0,00	70	13,305	872,315
CLA		20,61	15,06	0,77	0,60	0,00	70	41,411	938,128
ALA		49,37	23,52	0,48	0,23	0,00	70	16,486	977,860
C14:0		190,48	88,86	0,97	0,93	0,00	70	8,781	119,263
C15:0iso		15,27	7,57	0,85	0,72	0,00	70	90,646	407,941
C15:0		37,96	14,72	0,83	0,69	0,00	70	45,544	63,056
C16:0iso		24,06	10,65	0,82	0,68	0,00	70	62,359	291,505
C16:1		150,14	72,08	0,94	0,89	0,00	70	10,583	202,871
C17:0iso		35,26	13,80	0,88	0,77	0,00	70	51,524	-25,185
C17:0		102,57	42,63	0,90	0,82	0,00	70	17,121	35,782
C17:1		43,78	20,96	0,88	0,78	0,00	70	33,949	305,582
C18:0iso		16,64	7,45	0,90	0,81	0,00	70	97,735	165,180
C18:0		1944,47	738,37	0,93	0,86	0,00	70	1,013	-176,922
C18:2		74,78	45,87	0,54	0,30	0,00	70	9,579	1075,396
C18:2cj		20,61	15,06	0,77	0,60	0,00	70	41,411	938,128
C18:3		7,40	3,66	0,88	0,77	0,00	69	192,310	353,173
C17:0anteiso		67,74	26,74	0,76	0,58	0,00	70	22,964	236,193
C15:0anteiso		24,91	8,96	0,71	0,50	0,00	70	63,787	202,580
C14:1		17,75	11,60	0,83	0,69	0,00	70	57,833	765,313
C14:0iso		7,91	3,56	0,78	0,61	0,00	49	176,833	508,393
C12:0		7,58	3,13	0,98	0,96	0,00	64	249,034	-167,120
C10:0		7,03	3,87	0,90	0,80	0,00	57	186,333	420,298

Tabla 4

Músculo = REDONDO (mg/100 g)									
X	Y	Media	D.E.	R	R ²	valor P	N=	a=	b=
C16:0		464,52	227,74	0,00	0,00	0,00	0	0,000	0,000
AGS		822,70	391,97	0,99	0,99	0,00	25	0,578	-11,061
AGMI		944,87	448,35	0,98	0,96	0,00	25	0,498	-6,176
C18:1		827,98	392,43	0,98	0,96	0,00	25	0,569	-6,427
AGPI		84,94	29,49	0,67	0,45	0,00	25	5,157	26,474

ES 2 473 270 T3

Músculo = REDONDO (mg/100 g)									
X	Y	Media	D.E.	R	R ²	valor P	N=	a=	b=
CLA		6,57	4,09	0,74	0,54	0,00	25	41,014	195,174
ALA		5,42	2,42	0,50	0,25	0,01	25	47,380	207,744
LA		35,74	10,74	0,70	0,49	0,00	25	14,872	-66,985
C14:0		40,88	22,87	0,96	0,93	0,00	25	9,608	71,761
C15:0iso		3,32	1,94	0,92	0,85	0,00	25	108,175	105,723
C15:0		7,03	3,70	0,95	0,91	0,00	25	58,585	52,830
C16:0iso		4,49	2,47	0,93	0,86	0,00	25	85,472	80,750
C16:1		80,23	40,82	0,92	0,84	0,00	25	5,126	53,252
C17:0iso		8,25	4,15	0,95	0,91	0,00	25	52,290	33,015
C17:0		16,33	8,33	0,97	0,95	0,00	25	26,586	30,310
C17:1		15,03	7,36	0,96	0,92	0,00	25	29,615	19,408
C18:0iso		3,70	1,71	0,99	0,98	0,00	25	132,169	-24,326
C18:0		244,80	113,38	0,95	0,90	0,00	25	1,906	-2,145
C18:2		17,01	9,08	0,81	0,65	0,00	25	20,195	120,991
C18:2cj		6,57	4,09	0,74	0,54	0,00	25	41,014	195,174
C18:3		1,85	0,85	0,99	0,98	0,00	25	264,339	-24,326
C17:0anteiso		12,14	6,17	0,98	0,95	0,00	25	36,005	27,577
C15:0anteiso		3,44	1,81	0,92	0,85	0,00	25	115,471	67,211
C14:1		11,61	7,07	0,83	0,69	0,00	25	26,817	153,092
C12:0		1,78	0,80	0,99	0,98	0,00	24	261,363	-20,129

En el conjunto de estas tablas, las abreviaturas utilizadas tienen los siguientes significados:

- 5 D.E.: desviación estándar
- R: índice de correlación
- P: umbral de significancia estadística
- N: número de individuos sometidos a prueba
- AGS: ácidos grasos saturados
- AGMI: ácidos grasos monoinsaturados
- 10 AGPI: ácidos grasos poliinsaturados
- CLA: ácidos linoleicos conjugados
- ALA: ácido alfa-linolénico
- LA: ácido linoleico

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de evaluación de la cantidad de metano producida por un rumiante denominado "para carne", tal como un bovino, es decir de un animal criado y después matado para la comercialización de su carne, caracterizado porque consiste en determinar la cantidad de por lo menos un ácido graso AG contenido en un tejido de referencia, a saber un músculo o un tejido adiposo, extraído de dicho rumiante muerto (en g de AG/kg de tejido) y en calcular dicha cantidad de metano (en g de CH₄/kg de carne del animal) según una ecuación que es función de dicha cantidad de dicho AG, de la categoría de dicho animal, de su edad y de su peso, determinándose estos tres últimos criterios en el momento de su muerte, escribiéndose dicha ecuación como:

$$\text{CH}_4 \text{ (g/kg de carne del animal)} = [(((\text{Edad en meses}) * \text{Coef 1}) + \text{Coef 2}) * 1000 * \text{Tasa de lípidos (en \%)} * \text{Contenido en AG (en \% de lípidos totales)}] * 1000 / \text{Peso del animal (en kg de carne)},$$

en la que:

los coeficientes Coef 1 y Coef 2 son unos números cuyo valor es función de la naturaleza del tejido de referencia y de la categoría del animal.

2. Procedimiento de evaluación según la reivindicación 1, caracterizado porque dicho tejido de referencia es el músculo *longissimus dorsi* (dorsal largo).

3. Procedimiento de evaluación según una de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque dicha determinación de la cantidad de AG se realiza por análisis directo del tejido de referencia.

4. Procedimiento de evaluación según la reivindicación 2, caracterizado porque dicha determinación de la cantidad de AG se realiza por análisis de otro tejido, y después por deducción de la cantidad de AG de dicho músculo de referencia mediante una ecuación de predicción.

5. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque dicho AG es el ácido palmítico C16:0.

6. Procedimiento según las reivindicaciones 4 y 5 tomadas en combinación, caracterizado porque dicho otro tejido se selecciona de entre la babilla, la falda y el redondo, y porque la cantidad de ácido palmítico en el *longissimus dorsi* (C16:0_{LD}) viene dada por una u otra de las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} \text{C16:0}_{\text{LD}} &= 0,884 * \text{C16:0}_{\text{babilla}} + 2,240 \quad (r^2=0,855, n=48, p<0,001) \\ \text{C16:0}_{\text{LD}} &= 1,053 * \text{C16:0}_{\text{falda}} + 1,076 \quad (r^2=0,78, n=67, p<0,001) \\ \text{C16:0}_{\text{LD}} &= 0,948 * \text{C16:0}_{\text{redondo}} + 2,095 \quad (r^2=0,70, n=25, p<0,001) \end{aligned}$$

en las que C16:0_{babilla}, C16:0_{falda} y C16:0_{redondo} son los contenidos en ácido palmítico de los tejidos correspondientes, r es el coeficiente de correlación, n es el número de muestras sometidas a prueba y p el umbral de significancia.

7. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque dicho AG es diferente del ácido palmítico, pero está muy correlacionado con el mismo, con un umbral de significancia p inferior a 0,01.

8. Procedimiento según las reivindicaciones 2 y 3 tomadas en combinación, caracterizado porque dichos coeficientes 1 y 2 tienen los siguientes valores:

	Coef 1	Coef 2
Novillo	1,511 +/- 0,506	-13,782 +/- 5,0615
Ternera	0,555 +/- 0,1905	-4,807 +/- 1,907
Buey	0,885 +/- 0,278	-7,522 +/- 2,779
Vaca nodriza	0,582 +/- 0,235	0

9. Procedimiento según la reivindicación 3, cuando depende de la reivindicación 1 y el tejido de referencia es la falda, caracterizado porque dichos coeficientes tienen los siguientes valores:

	Coef 1	Coef 2
Novillo	0,5142	-4,7000
Ternera	0,3356	-2,9042
Buey	0,3011	-2,5596
Vaca nodriza	0,2671	0,000