

# Antioxidantes

## Estudios de Calidad

*Las carnes con mayor contenido de antioxidantes naturales se diferencian por su calidad comercial y nutricional, aspectos que brindan a los consumidores una mejor calidad de vida y al mercado mayores beneficios económicos*

● Dres. Norma A. Pense, E. Marina Insani, Adriana M. Descalzo y Luciana Rossetti  
Instituto Tecnología de Alimentos, INTA Castelar

- El estudio de los antioxidantes en alimentos a nivel científico-tecnológico mantiene su relevancia. Esto se evidencia por el aumento en el número de investigaciones y los recursos aportados a este área, catalizados por la necesidad de conocer la real significación de estos compuestos en la mejora de la eficiencia en la producción, conservación y comercialización de alimentos con calidad optimizada. Su importancia, además de los beneficios para la agroindustria, está dada por el fin último que se busca: mejorar la calidad de vida del consumidor.

Los antioxidantes en general son sustancias que pueden inhibir o retardar el proceso oxidativo, interfiriendo con la iniciación o propagación de las reacciones en cadena de la auto-oxidación. La calidad de la carne se ve afectada por numerosos procesos de deterioro resultantes de cambios físico-químicos, por efecto de distintas prácticas *post mortem*, condiciones de almacenamiento y conservación.

Los procesos de deterioro se manifiestan en alteraciones de parámetros tales como el color, sabor, aroma y textura, lo que resulta en pérdida de la calidad organoléptica de la carne. Una de sus principales causas son los procesos oxidativos que están determinados por la composición de pro-oxidantes (lípidos insaturados y mioglobina, entre otros) y antioxidantes en el tejido muscular y favorecidos por factores como la exposición al oxígeno, la luz y el aire y condiciones microbiológicas entre otros. La inhibición o retardo de los procesos oxidativos están conducidos principalmente por los antioxidantes.

Estos pueden ser naturales o artificiales;

dentro de los antioxidantes naturales, se encuentran compuestos liposolubles e hidrosolubles (vitamina E, pro-vitamina A, vitamina C, glutatión) y las enzimas antioxidantes.

El a-Tocoferol (vitamina E) y el b-Caroteno (pro-vitamina A) han sido estudiados a fin de tratar de dilucidar su rol tanto en productos destinados a consumo interno como en productos acondicionados para ser comercializados en mercados de exportación.

En diversos estudios realizados en el INTA, fueron analizados también otros antioxidantes, tales como glutatión, enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa), ácido ascórbico, entre otros, dado que es necesario realizar un estudio integral de los mecanismos oxidativos-antioxidantes para tratar de entender esta problemática y encontrar respuestas a las necesidades de los distintos productos destinados a diferentes mercados. La dieta de los animales es un factor preponderante a tener en cuenta, ya que provee de antioxidantes naturales y modifica el entorno prooxidante (composición lipídica fundamentalmente).



I. FRAP: Ferric Reducing Ability of Plasma

Por lo tanto también se llevaron a cabo distintos estudios que se centraron en la caracterización de la calidad de carne proveniente de novillos alimentados con base pastoril o de grano, con y sin suplementación con vitamina E. Desde el punto de vista de los parámetros bioquímicos, se estudia la oxidación lipídica (determinación de TBARS), oxidación de proteínas (determinación de compuestos carbonílicos), concentración de antioxidantes (a-Tocoferol y b-Caroteno por HPLC), glutatión (determinación colorimétrica), ácido ascórbico (FRAP<sup>1</sup> -C), actividad de enzimas antioxidantes (medición cinética espectrofotométrica) y determinación de poder antioxidante total (FRAP). Todos estos estudios realizados en el Instituto Tecnología de Alimentos, tienen por objeto tratar de entender, y de ese modo poder mejorar, la calidad de carnes según los distintos requerimientos de comercialización. En esta oportunidad nos referimos a dos de ellos, que toman en cuenta las condiciones habituales de comercialización:

*Carne fresca* (rodajas de lomo, músculo *Psoas major*) destinada a consumo interno proveniente de animales terminados a grano o pasto, simulando condiciones de comercialización en góndola, es decir presentadas en bandejas de poliuretano, cubiertas con película permeable al oxígeno, conservadas a temperatura de refrigeración y bajo iluminación. Se estudió la vida útil entre 1 y 9 días.

*Carne fresca madurada* (lomos enteros, músculo *Psoas major* entero) destinada a exportación, proveniente de animales alimentados a grano o pasto, con y sin suplementación con vitamina E, envasados al vacío y conservados a temperatura de refrigeración. Se estudió la vida útil a los 0, 30, 60 y 90 días.

Las conclusiones obtenidas hasta el presente demuestran que los requerimientos varían según las necesidades de comercialización y deben ser tenidos en cuenta para optimizar la estabilidad oxidativa y por ende la calidad de carne.

#### CARNE DESTINADA A CONSUMO INTERNO

La carne proveniente de novillos terminados a pasto (P), presentaron niveles más altos de

a-Tocoferol y b-Caroteno que aquella proveniente de novillos terminados a grano (G). Después de tres días de almacenamiento en condiciones similares de exposición en góndola, las carnes G presentaron un incremento significativo en la oxidación lipídica, mientras que en las carnes P esto se manifestó recién a los siete días, lo que evidencia una mayor estabilidad de las carnes P. Este retraso en el desarrollo de la oxidación en P, puede ser explicado por el mayor contenido de alfa-tocoferol y por la velocidad de utilización metabólica del mismo (a través de lo cual se evidencia su capacidad antioxidante) que resultó ser casi dos veces mayor para las muestra P que para las G. En cuanto al contenido de betacaroteno resultó más alto para las carnes P y su utilización fue significativa hacia el final del almacenamiento (9 días). Las carnes G presentaron valores bajos de b-caroteno y además, no mostraron consumo significativo. Esto se explica por el hecho que el grado de consumo efectivo de b-caroteno depende de su concentración inicial.

También, es notable el efecto antioxidante aditivo observado entre a-Tocoferol y b-caroteno cuando las concentraciones de este último se encuentran en los valores hallados en las muestras P (0.52-0.93 con un promedio de 0.74 mg/g tejido), pero no en los valores hallados en G (Tabla I). Es importante remarcar que la proporción entre los antioxidantes es lo que permite alcanzar un mejor poder antioxidante general.

Tabla I: Valores de Antioxidantes en músculos

Dieta / días	Psoas mayor (mg/g tejido)			
	a-Tocoferol		β-Caroteno	
	1	9	1	9
Grano	0.79 Aa	0.34 Ab	0.17 Aa	0.16 Aa
Pastura	2.06 Ba	1.21 Bb	0.74 Ba	0.56 Bb

A, B entre cada columna muestra diferencia significativa (tratamientos)

a, b entre cada fila muestra diferencia significativa (tiempo)

Otro aspecto estudiado, que influencia fuertemente la calidad de carnes, fue la oxidación de proteínas. El interés radica en el hecho que la mioglobina (proteína) del músculo en sus diferentes estados de óxido-reducción es responsable del color rojo bri-



llante (oximioglobina) típico de la carne. Cuando este pigmento sufre modificaciones, se torna púrpura (deoximioglobina) o amarillado (metamioglobina). Como ha sido demostrado, el color es un parámetro de gran impacto, que determina la aceptación o rechazo de un producto por parte de los consumidores. El poder aumentar la protección contra la oxidación de esta proteína, es por lo tanto, de relevancia para lograr retardar la aparición de colores amarillentos o manchas que afectan seriamente la calidad de los cortes de carne, produciendo pérdidas económicas importantes.

En este ensayo se encontraron niveles iniciales similares de oxidación proteica para P y G. Pero a los nueve días de almacenamiento resultaron mayores para G. Por el contrario, las carnes P no evidenciaron aumento significativo de este parámetro al mismo tiempo de almacenamiento. Se determinó, asimismo, una alta correlación inversa entre la formación de metamioglobina y la concentración inicial de b-Caroteno para las muestras P

(Fig. 1). No ocurrió lo mismo con las muestras G, que mostraron bajos valores de b-Caroteno aún al inicio del almacenamiento. El mayor nivel de a-Tocoferol y b-Caroteno que presentaron las muestras P, se tradujo en una mejor retención del color rojo, medido como parámetro "a" de la escala Hunter Lab, utilizando medición objetiva del color.

Se encuentra descripta en la literatura científica, la relación intrínseca existente entre la oxidación lipídica y la oxidación proteica en carnes. También es sabido que la oximioglobina sufre procesos de auto-oxidación y al mismo tiempo procesos oxidativos causados por lípidos que fueron oxidados en un estadio anterior. Pero resulta necesario continuar la investigación para tratar de dilucidar los mecanismos y su posible retardo por acción de antioxidantes. Profundizar el conocimiento sobre este tema, permitirá diseñar nuevas estrategias de producción y procesamiento tendientes a prolongar la vida útil de la carne, en lo que respecta a su estabilidad oxidativa.

Figura 1: Relación entre % de metamioglobina y concentración de  $\beta$ -caroteno

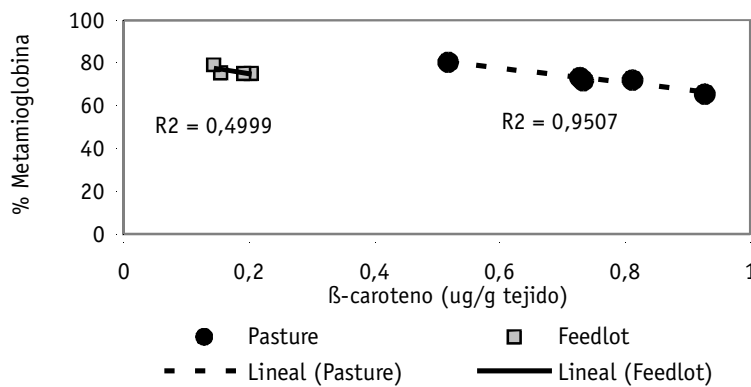
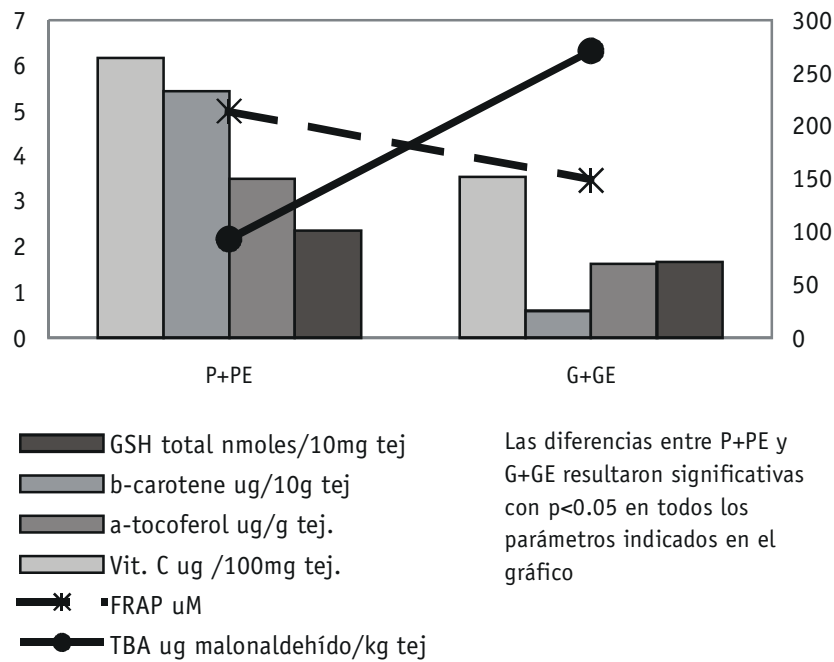


Figura 2: Relación antioxidantes/oxidación lipídica



#### CARNE DESTINADA A LA EXPORTACIÓN

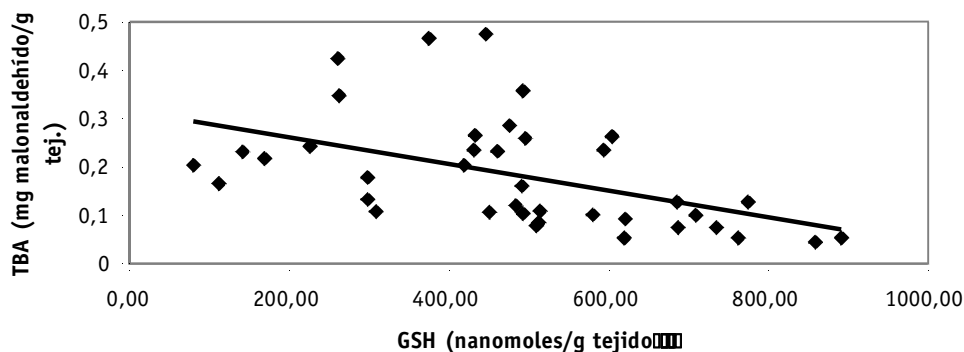
En este estudio las determinaciones realizadas sobre carne fresca (24 h. post-faena), mostraron que los animales que consumieron una dieta rica en antioxidantes naturales, como los alimentados a pastura, incorporaron mayores niveles de vitaminas antioxidan-

tes que aquellos que recibieron alimentación a grano (Fig. 2). Los niveles de a-tocoferol, b-caroteno y ácido ascórbico fueron significativamente mayores en las carnes de animales alimentados a pasto.

Dado que además de las vitaminas, el ciclo de óxido-reducción de los tioles celulares



Figura 3: GSH vs TBA



juega un papel muy importante en la defensa antioxidante y en la transducción de señales intracelulares, se evaluaron los niveles de glutatión (el tior intracelular más abundante). Esta molécula posee propiedades antioxidantes, ya que la misma es sustrato de la enzima glutatión peroxidasa, la cual es fundamental para la detoxificación celular producida por los productos de la oxidación lipídica (lipoperóxidos). Los resultados obtenidos mostraron que la concentración de glutatión total resultó significativamente más alta en los homogenatos de carne procedente de alimentación a pasto respecto de la de grano (Fig. 2). Se observó que, aquellas muestras con un mayor contenido de glutatión, presentaron menores niveles de oxidación de lípidos, obteniéndose una correlación inversa entre ambos fenómenos (Fig. 3).

Debemos señalar que los antioxidantes son moléculas que cuando se encuentran presentes en una cantidad significativamente menor que los compuestos que utilizan como sustrato, previenen la oxidación de los mismos. En rigor de verdad, cualquier molécula que pueda oxidarse a sí misma genera un poder reductor que actúa en contra del proceso oxidativo. De este modo la medida del poder reductor se ha utilizado, sobre todo en muestras de plasma e infusiones, como medida indirecta de la capacidad antioxidante total de un fluido. Esta técnica denominada FRAP ha sido modificada y aplicada a homogenatos clarificados de carne fresca proce-

dente de grano y pasto. Los resultados obtenidos, esquematizados en la Figura 2, muestran que la capacidad antioxidante medida como poder reductor de los homogenatos de carnes procedentes del sistema pastoril, es significativamente más alta que la de los procedentes de alimentación a grano, y por lo tanto, muestra una relación inversa con la medición de oxidación lipídica.

Por otro lado, las carnes procedentes de pasturas poseen un nivel significativamente mayor de ácidos grasos insaturados que las procedentes de grano. Si bien esto es deseable desde el punto de vista nutricional es desfavorable para la conservación. Pero los resultados de nuestros ensayos indicaron que a pesar de que la susceptibilidad a la oxidación es proporcional a la concentración y al número de insaturaciones presentes en los lípidos, en el caso de la dieta a base a pastura, el contenido de antioxidantes naturales



incorporados al músculo lograron contrarrestar el efecto prooxidante de la composición.

Las enzimas antioxidantes más importantes a considerar en el músculo son la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa. Estas constituyen una barrera antioxidante intracelular para impedir la acción de los prooxidantes.

En cuanto a la actividad de estas tres enzimas, no se encontraron diferencias relevantes entre las dietas ensayadas, en las determinaciones realizadas 24 h post-faena. También se realizaron ensayos de suplementación de ambas dietas base (grano y pasto) con vitamina E. Los resultados obtenidos mostraron que si bien el suplemento vitamínico mejora la estabilidad oxidativa, la influencia de la dieta base en la concentración de antioxidantes en el músculo es mayor que la del suplemento.

De este modo, con un contenido de antioxidantes significativamente más elevado y consecuentemente con menores niveles de oxidación lipídica, los músculos procedentes de pastura se encuentran más protegidos de los efectos deletéreos de la oxidación. Esto se evidenció en el ensayo de estabilidad oxidativa de carne envasada al vacío almacenada por 90 días, a 2°C y en oscuridad, simulando las condiciones de exportación a mercados lejanos como Asia-Pacífico. La progresión de la oxidación lipídica se mantuvo en niveles más bajos en aquellos músculos con mayor contenido de vitaminas antioxidantes, mostrando un retardo de la actividad oxidativa en el caso de suplementación de las dietas basales con vitamina E. Este fenómeno se tradujo, en una mayor estabilidad del color rojo aún luego de 90 días de almacenamiento. ■

---

#### <h` dh` kZ,Z

Tsuchihashi, H., Kigoshi, M., Iwatsuki, M., Niki, E. (1995). Action of  $\beta$ -carotene as an antioxidant against lipid peroxidation. Arch. Bioch. and Bioph. 323 (1): 137 -147.

Insani, E.M.; Eyherabide, A.; Descalzo, A.M.; Sancho, A.M. and Pensel, N.A. (2000) Argentine beef: lipid and protein oxidation and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display. 46 th ICoMST pp 554-555.

Pensel, N.A.; Insani, E.M.; Eyherabide, A.; Descalzo, A.M.; Grigioni, G.M.; Sancho, A.M. and Margaría, C.A. (2000). Argentine beef: antioxidants and colour stability during refrigerated retail display. 46 th ICoMST pp 544-545.

Descalzo, A.M.; Insani, E.M.; Margaría, C.A., García, P.T.; Josifovich, J. and Pensel, N.A. (2000) Antioxidant status and lipid oxidation in fresh argentine beef from pasture and grain-fed steers with vitamin E supra-nutritional supplementation. 46 th ICoMST pp 562-563.

Pensel, N.A., Descalzo, A.M., Insani, E.M., Eyherabide, A., Meichtri, L., Sancho, A.M., Margaría, C.A., Lasta, J. And García, P.T. (2000). Oxidative stability of argentine beef during ninety days of storage: supra-nutritional supplementation with vitamin E on grain and pasture production. 46 th ICoMST, pp 546-547.

Parte de los resultados expuestos en este trabajo han sido subsidiados por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. Proyecto BID 1201/OC-AR PICT 09-03517, otorgado al INTA (Instituto Tecnológico de Alimentos CIA Castelar - EEA Pergamino).