

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE EXTRACTO DE VINO TINTO EN LA CONSERVACIÓN DE HAMBURGUESAS DE CORDERO ENRIQUECIDAS EN ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3
EFFECT OF THE ADDITION OF RED WINE EXTRACT ON THE STORAGE OF LAMB PATTIES ENRICHED WITH OMEGA-3 FATTY ACIDS**

Muíño, I.¹, Apeleo, E.², Pérez-Santaescolástica, C.², Díaz, M.T.¹, Pérez, C.³, De la Fuente, J.², López, O.¹, Cañeque, V.¹, Rivas-Cañedo, A.¹, Bermejo, R.², Lauzurica, S.²

¹INIA, Dpto. Tec. Alimentos, Ctra. De la Coruña, km 7.5, 28040. Madrid. muino.iria@inia.es.

²UCM, Fac. Vet. Dpto. Prod. Animal, Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040. Madrid. ³UCM, Fac. Vet. Dpto. Fisiología (Fisiología Animal) Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040. Madrid

RESUMEN: El vino tinto es una gran fuente de compuestos polifenólicos que presentan una gran capacidad antioxidante. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la adición de extracto de vino (EV) en la estabilidad oxidativa de hamburguesas de cordero, estudiando la formación de metamioglobina (MetMb), la oxidación lipídica, la oxidación proteica y el contenido en ácido docosahexaenoico (DHA). Se realizaron 4 lotes de carne picada de cordero, todos enriquecidos en ácidos grasos ω 3. A tres lotes se les adicionó EV para obtener una concentración final de 50 (EV1), 100 (EV2) y 200 (EV3) mg GAE/kg de carne y el último lote, sin antioxidantes, se mantuvo como control (C). Las hamburguesas se conservaron en MAP (70% O₂/30% CO₂) durante 9 días. Se observó una interacción entre el lote (L) y el periodo de conservación (PC) para la proporción de MetMb ($p < 0,001$) y el contenido en DHA ($p < 0,01$). Los lotes EV2 y EV3 presentaron menor proporción de MetMb y mayor contenido en DHA que los lotes EV1 y C. La oxidación lipídica y proteica estuvo afectada por el periodo de conservación ($p < 0,001$) aumentando en todos los tratamientos.

PALABRAS CLAVE: metamioglobina, dienos conjugados, grupos tiol, polifenoles

ABSTRACT: Red wine is a great source of polyphenols compounds, which exert a high antioxidant capacity. The effect of red wine extract (EV) on the oxidative stability of lamb patties in terms of metmyoglobin (MetMb) formation, lipid oxidation, protein oxidation, and the stability of docosahexaenoic fatty acid (DHA) was investigated. Ground lamb meat enriched in ω 3 fatty acids was divided into four treatments. Three treatments were supplemented with 3 doses of EV being 50 (EV1), 100 (EV2) and 200 (EV3) mg GAE/kg meat and, the last one, without antioxidant supplementation, was kept as control (C). The lamb patties were stored under MAP (70% O₂/30% CO₂) during 9 days. There was an interaction between treatment (L) and storage period (PC) for MetMb proportion ($p < 0.001$) and DHA content ($p < 0.01$). Groups EV2 and EV3 showed less MetMb proportion and higher DHA content at the end of storage period in comparison to groups EV1 and C. Lipid and protein oxidation was affected by storage period ($p < 0.001$), increasing in all treatments.

KEYWORDS: metmyoglobin, conjugated dienes, thiol groups, polyphenols

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha visto una creciente demanda de productos cárnicos saludables. Numerosos ingredientes han sido usados para reformular productos cárnicos y promover la presencia de compuestos beneficiosos para la salud (proteínas vegetales, fibras, antioxidantes, prebióticos y probióticos). Debido a su gran importancia, los lípidos han recibido gran atención en términos cuantitativos y cualitativos. Una de las estrategias para conseguir mejorar el perfil lipídico del alimento es la reformulación del producto acorde con las recomendaciones nutricionales, aumentando el contenido en ácidos grasos poliinsaturados, especialmente aquellos pertenecientes a la familia de los omega-3 (ω 3). Sin embargo, el incremento del nivel de insaturación de la grasa hace que estos productos sean más vulnerables a la oxidación, dando lugar al deterioro del valor nutritivo y de la calidad organoléptica del mismo. Para disminuir la aparición de fenómenos oxidativos, la industria cárnica ha empleado de forma tradicional diversos antioxidantes sintéticos como método eficaz y económico. Sin embargo, la preferencia de los consumidores por ingredientes naturales ha generado interés por el uso de antioxidantes procedentes de fuentes naturales. En este sentido, los compuestos polifenólicos procedentes de vegetales están teniendo un gran auge debido a su capacidad antioxidante y a que satisfacen la demanda del consumidor por alimentos libres de aditivos sintéticos. En el vino tinto se presentan

numerosos compuestos polifénolicos (principalmente proantocianidinas y sus monómeros) derivados tanto de la uva como del procesado, que presentan actividad antioxidante.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la adición de extracto de vino sobre la estabilidad oxidativa de hamburguesas de cordero enriquecidas en $\omega 3$ y conservadas en MAP (70% O₂/30% CO₂) durante 9 días.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de carne se obtuvieron de piernas de cordero tipo ternasco. Después de eliminar la grasa subcutánea y el tejido conjuntivo, la carne se troceó en dados y se pasó dos veces por una picadora con un paso de 5 mm. Se realizaron 4 lotes, todos ellos enriquecidos en ácidos grasos $\omega 3$ mediante la adición en emulsión acuosa de un producto comercial rico en ácidos grasos $\omega 3$ para obtener 100 mg de ácidos grasos de cadena larga/100 g de carne. A tres lotes se les añadió extracto de vino tinto (EV) (Provinols®, Seppic S. A. France), como solución acuosa, a 3 dosis diferentes para obtener una concentración final de 50 (EV1), 100 (EV2) y 200 (EV3) mg GAE/kg de carne. Según la especificación del fabricante, la composición de polifenoles del extracto de vino era proantocianidinas y sus monómeros, catequinas y epicatequinas. El último lote, con el mismo volumen de agua destilada que el resto de lotes pero sin antioxidantes, se mantuvo como control (C). Se realizaron hamburguesas de 100 g de carne (3 hamburguesas por lote) que se conservaron en atmósfera modificada (MAP, 70% O₂/30% CO₂) durante 0, 3, 6 y 9 días en refrigeración (4°C). Se determinó la capacidad antioxidante de la carne al inicio de la conservación mediante los ensayos FRAP (Benzie y Strain, 1999) y ORAC (Ou et al., 2001). En cada periodo de conservación, los análisis realizados fueron: determinación del porcentaje de metamioglobina (MetMb) (Krzywicki, 1979), determinación de la oxidación lipídica por cuantificación de dienos conjugados (IUPAC, 1992), determinación de la oxidación de proteínas mediante la cuantificación de grupos tioles (Jongberg et al., 2011). Al inicio (día 0) y al final del periodo de conservación (día 9) se cuantificó el contenido en ácido docosahexaenoico (DHA) (Lee et al., 2012). Para el análisis estadístico se realizó un ANOVA unifactorial para estudiar el efecto del lote (L) en la capacidad antioxidante o un ANOVA bifactorial en el resto de análisis para estudiar el efecto del lote (L) y el efecto del periodo de conservación (PC). Cuando la interacción entre ambos factores (PC*L) resultó significativa, las medias se compararon mediante el test de Tukey/Kramer con un nivel de significación $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la determinación de la capacidad antioxidante de una muestra, deben usarse diferentes ensayos debido a que cada uno de ellos nos proporciona diferente información respecto a las reacciones químicas en las que está involucrado un antioxidante. Estas reacciones pueden estar basadas en la transferencia de un átomo de hidrógeno, como es el ensayo ORAC, o en la transferencia de un electrón, como es en el ensayo FRAP (Huang et al., 2005). En el presente trabajo, no se observaron diferencias entre lotes para el ensayo ORAC (*Tabla 1*) mientras que la capacidad antioxidante resultó diferente ($p < 0,001$) entre lotes medida mediante el ensayo FRAP, donde los valores resultaron en el siguiente orden EV3>C>EV2=EV1 (*Tabla 1*).

Se observó una interacción ($p < 0,001$) entre el lote y el periodo de conservación para la proporción de MetMb (*Tabla 2*). Al final del periodo de conservación (día 9) los lotes EV2 y EV3 presentaron menor contenido en MetMb que los lotes C y EV1, aunque ya a partir del día 6 de conservación la proporción de MetMb superó, en todos los lotes, el umbral de aceptabilidad del 40% propuesto por Greene et al. (1971). Este hecho pudo ser consecuencia del picado de la carne que provoca la rotura celular y da lugar a carne más susceptible a la oxidación, además de tener en cuenta la conservación de la carne en una atmósfera con alta proporción de oxígeno que acentúa los procesos oxidativos.

La oxidación lipídica medida mediante la formación de dienos conjugados aumentó con el periodo de conservación ($p < 0,001$) en todos los lotes (*Tabla 2*). No se observó efecto antioxidante del extracto de vino en la formación de dienos conjugados, sin embargo en estudios anteriores (Muñío et al., 2013), sí se observaron menores valores de TBARS en todos los lotes EV respecto al C durante el periodo de conservación. Este resultado podría deberse al elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados de la carne, que pueden

interferir en la medida de absorbancia a la longitud de onda utilizada para la cuantificación de los dienos conjugados (Estévez et al., 2008).

La oxidación proteica, medida por la disminución de grupos tiol, aumentó durante el periodo de conservación ($p < 0,001$) en todos los lotes. La reducción en la cantidad de grupos tiol en la carne es resultado de la oxidación sólo del aminoácido histidina (Lund et al., 2011) por lo que este resultado no se debería entender como oxidación proteica global, si no entendido como una parte de la misma que ha tenido lugar durante la conservación. Las proteínas hemo, como la MetMb, pueden ser iniciadoras de la oxidación proteica, por lo que los elevados valores de MetMb encontrados pudieron haber afectado a la oxidación de proteínas. Por otro lado, los metales de transición también pueden ser iniciadores de la oxidación de proteínas, y teniendo en cuenta que los polifenoles presentes en el extracto de vino empleado en este trabajo no presentan actividad quelante de hierro (Ferrali et al., 1997), podría explicarse la falta de efecto antioxidante del EV ante la oxidación proteica.

Se observó una interacción entre lote y periodo de conservación ($p < 0,01$) para el contenido en DHA. Al final del periodo de conservación (día 9) los lotes con EV presentaron un mayor contenido en DHA con respecto al C, y esta protección frente a la oxidación resultó dosis-dependiente. Estos resultados coinciden con el menor grado oxidación lipídica, medida como TBARS, observado durante la conservación en los lotes con EV (Muíño et al., 2013).

Concluyendo, la adición de extracto de vino tinto a hamburguesas enriquecidas en $\omega 3$ resultó en una menor formación de MetMb y en una mayor estabilidad del contenido en DHA al final del periodo de conservación, siendo suficiente el empleo de la dosis EV2 (100 mg GAE/kg de carne). Sin embargo, no presentó ningún efecto en el contenido de dienos conjugados o grupos tiol.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Benzie I.F.F. y Strain J.J. 1999. *Meth. Enzym.* 299: 15-27 • Estévez, M., Morcuende, D. y Ventanas, S. 2008. En: Nolle, L.M.L., Toldrán, F. (Eds.), *Handbook of Processed Meat and Poultry Analysis*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 141-162 • Ferrali, M., Signorini, C., Caciotti, B., Sugherini, L., Ciccoli, L., Giachetti, D., Comporti, M. 1997. *FEBS Letters* 416: 123-129 • Greene, B.E., Hsin, I. y Zipser, M.W. 1971 *J. Food Sci.* 36: 940-942 • Huang, D, Ou, B. y Prior, R. 2005. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1841-1856 • IUPAC. 1992. Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives, IUPAC Standard Method 2.501. International Union of Pure and Applied Chemistry, 7th ed., Pergamon, Oxford • Jongberg, S., Skov, S.H., Tørrngren, Skibsted, L.H. y Lund, M. 2011. *Food Chem.* 128: 276-283 • Krzywicki, K. 1979. *Meat Sci.* 3: 1-10 • Lee, M.R.F., Tweed, J.K.S., Kim, E.J. y Scollan, N.D. 2012. *Meat Sci.* 92: 863-866 • Muíño, I., Apeleo, E., Pérez-Santaescolástica, C., Díaz, M.T., Pérez, C., Rivas-Cañedo, A., Bermejo, R., López, O., Lauzurica, S., De la Fuente, J. y Cañeque, V. XV Jornadas sobre Producción Animal, Zaragoza, Mayo 2013 • Ou, B., Hampsch-Woodill, M. y Prior, R.L. 2001. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4619-4626

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos RTA2009-00087-C02-01 (INIA) y P2009/AGR-1704 (Comunidad de Madrid). Los autores agradecen la asignación de una beca FPI-INIA a la doctoranda Iria Muíño y, así mismo, agradecen al CONICITY-Chile la concesión de una beca predoctoral a Elizabeth Apeleo.

Tabla 1. Capacidad antioxidante de hamburguesas de cordero enriquecidas en $\omega 3$ según los diferentes lotes: control (C) y extracto de vino (EV)

	C	EV1	EV2	EV3	EEM ¹	Significación
ORAC ($\mu\text{M eq. TROLOX/g carne}$)	0,542	0,484	0,556	0,510	0,03	ns
FRAP ($\mu\text{M eq. Fe}^{II}/\text{g carne}$)	20,8 ^b	15,6 ^a	16,7 ^a	24,2 ^c	1,11	***

¹ Error estándar de la media

*** $p < 0,001$; ns: no significativo

^{a,b,c} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Tabla 2. Porcentaje de MetMb, valores de oxidación lipídica (μM dienos conjugados/g carne), valores de oxidación proteica (nM tioles/mg proteína) y contenido en DHA (mg/100g carne) de hamburguesas de cordero enriquecidas en $\omega 3$ según los diferentes lotes: control (C) y extracto de vino (EV), durante el periodo de conservación (PC) en MAP (70% O_2 /30% CO_2).

	PC Días	Lote (L)				EEM ¹	Significación		
		C	EV1	EV2	EV3		PC	L	PC*L
MetMb	0	^a 21,5 ^x	^a 21,2 ^x	^a 22,3 ^x	^a 27,3 ^y	0,69	***	**	***
	3	^b 30,0 ^x	^b 30,2 ^x	^b 31,3 ^{xy}	^b 32,8 ^y				
	6	^c 71,5 ^x	^c 66,8 ^{xy}	^c 65,3 ^y	^c 62,5 ^y				
	9	^c 67,4 ^x	^c 66,7 ^x	^c 64,6 ^y	^c 63,3 ^y				
Dienos conjugados	0	1,64	1,62	1,68	1,58	0,29	***	ns	ns
	3	1,91	1,77	2,35	2,26				
	6	2,39	2,41	2,61	2,36				
	9	4,13	3,53	3,12	3,32				
Grupos tiol	0	31,5	29,2	33,8	36,9	2,79	***	ns	ns
	3	30,5	27,4	29,9	28,2				
	6	25,4	23,4	25,5	22,9				
	9	20,3	22,7	22,6	22,9				
DHA	0	^a 64,8 ^x	^a 65,8 ^x	^a 60,6 ^{xy}	^a 51,0 ^y	3,33	***	ns	**
	9	^b 12,5 ^x	^b 23,4 ^y	^b 29,6 ^z	^b 30,2 ^z				

¹ Error estándar de la media

*** p<0,001; ** p<0,01; ns: no significativo

^{a,b,c} Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

^{x,y,z} Letras diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05)