

OXIDACIÓN DEL COLESTEROL EN CARNE Y DERIVADOS: FACTORES QUE DETERMINAN SU FORMACIÓN

Cholesterol oxides in meat and meat products: formation determining factors

Gil M.D.*, Bañón S., Laencina J., Garrido M.D.

Área de Tecnología de Alimentos. Universidad de Murcia. Facultad de Veterinaria. Campus Universitario. Espinardo 30071. Murcia

* Autor de referencia: mariolag@um.es

RESUMEN:

La oxidación del colesterol de la carne da lugar a una amplia gama de compuestos secundarios potencialmente tóxicos para el organismo, estando inversamente relacionada con la estabilidad oxidativa del resto de lípidos de la matriz cárnica. Tanto la especie animal como el aporte graso de la dieta condicionan el grado de insaturación de los lípidos y, en consecuencia, la síntesis de óxidos del colesterol en carne fresca. La mayor parte de técnicas de procesado, especialmente el cocinado y los tratamientos de irradiación, incrementan drásticamente la velocidad de formación de oxisteroles. Por otra parte, la síntesis de óxidos del colesterol puede verse reducida, tanto mediante técnicas de envasado en atmósferas protectoras y/o almacenamiento en congelación, como mediante la utilización de antioxidantes. En este último sentido, la suplementación de la dieta con vitamina E viene siendo considerada como uno de los métodos más eficaces para disminuir el grado de acumulación de este tipo de compuestos en carne fresca y productos cárnicos procesados.

Palabras clave: Colesterol, oxidación lipídica, productos secundarios a la oxidación del colesterol (COPS)

ABSTRACT:

Cholesterol oxidative reactions in meats lead to a production of potentially toxic secondary compounds. Lipid and cholesterol oxidative stability are closely related. The amount and composition of cholesterol oxidation products in fresh meat varied significantly depending on animal species and dietary fat intake, since both factors determine the degree of unsaturation of meat fat. Most of processing methods, such as cooking or irradiation treatments, considerably increase the oxysterols formation rate. On the other hand, protective atmospheres packaging and/or frozen storage, and the incorporation of antioxidants minimize cholesterol oxidation. In this sense, vitamin E dietary supplementation is a powerful tool in order to prevent their synthesis in fresh and processed meat products.

Key words: Cholesterol, lipid oxidation, cholesterol oxidation products (COPS)

INTRODUCCIÓN:

El colesterol es uno de los lípidos más abundantes en los alimentos de origen animal, siendo muy susceptible de ser oxidado durante las etapas de procesado y almacenamiento (Penazzi et al., 1995; Dionisi et al., 1998). Las reacciones de autooxidación del colesterol dan lugar a una amplia gama de productos secundarios denominados genéricamente COPS.

Hasta el momento se han identificado más de 60 tipos de óxidos del colesterol, algunos de los cuales presentan actividades biológicas adversas *in vivo*. Sus efectos sobre el organismo han sido ampliamente detallados y discutidos en las revisiones llevadas a cabo por Finocchiaro y Richardson (1983), Peng y Taylor (1984), Böesinger et al. (1993) y Paniangvait et al. (1995). Los COPS con mayor actividad biológica son: α -epoxicolesterol (o colesterol-5 α ,6 α -epóxido) –causante de lesiones ateroscleróticas y con actividad carcinógena– (Finocchiaro et al., 1984; Guardiola et al., 1996), 25-hidroxicolesterol (o 5-colesten-3 β -25-diol) y el colestano-3 β -5 α -6 β -triol –ambos con actividad citotóxica y angiotóxica (Park y Addis 1986a; Nourooz-Zadeh y Appelquist 1987; Zhang et al., 1991; Paniangvait et al., 1995). Además, este tipo de compuestos son capaces de alterar las funciones de membrana, incrementando su permeabilidad (Hennings y Boissonneault 1987).

La presencia de COPS en carne y derivados, unido a su demostrada actividad biológica nociva, ha promovido la realización de numerosas investigaciones con el fin de comprender el mecanismo de formación de estos compuestos y de determinar el efecto sobre la salud derivado de su ingesta. Hasta el momento ha quedado demostrado que los actuales hábitos alimentarios, basadas en el consumo de platos precocinados y recalentados previamente a su consumo, incrementan considerablemente el nivel de producción de oxisteroles (Pie et al., 1991; Kowale et al., 1996; Gil, 2002). Pese a lo que

puedan pensar los consumidores, diversos estudios *in vivo* han puesto de manifiesto que la intensidad de las lesiones ateroscleróticas inducidas por la ingesta de elevadas dosis de COPS es superior a la provocada por dietas ricas en colesterol (Peng et al. 1991). Estudios realizados por Emanuel et al. (1991) y Staprans et al. (1998) demuestran que los óxidos de colesterol ingeridos por el organismo humano son absorbidos e incorporados a las lipoproteínas, pudiendo desencadenar procesos patológicos (Maraschiello et al., 1997). Este tipo de compuestos pueden incluso alterar los niveles tisulares de colesterol, bien por inhibición de las reacciones de biosíntesis (Lund y Bjorkhem 1994) o bien por disminución de la biodisponibilidad del colesterol aportado por la dieta (Peng et al., 1987).

A la vista del creciente interés de los consumidores por la salubridad de los alimentos que se ingieren, y dado que la carne y sus derivados son alimentos base de la dieta, el presente trabajo recoge los resultados más relevantes acerca de los factores que condicionan la síntesis de óxidos del colesterol.

1. RUTAS DE SÍNTESIS DE ÓXIDOS DEL COLESTEROL

Según se aprecia en la Figura 1, la molécula de colesterol está compuesta por 4 anillos (A, B, C y D) y una cadena lateral metilada. El anillo B es la parte más susceptible de sufrir reacciones de autooxidación debido a la presencia de un doble enlace en su estructura, lo que convierte al C₇ en la posición más propensa a sufrir reacciones oxidativas (Tai et al., 1999). La presencia de un grupo hidroxilo en la posición C₃ le confiere al anillo A una elevada estabilidad y una mayor resistencia a los procesos de autooxidación, por lo que los oxisteroles sintetizados por esta vía representan una fracción minoritaria respecto del perfil total de COPS formado (Smith 1987). Por otra parte, dentro de la cadena alifática lateral, son los carbonos C₂₀ y C₂₅ los que, debido a su conformación espa-

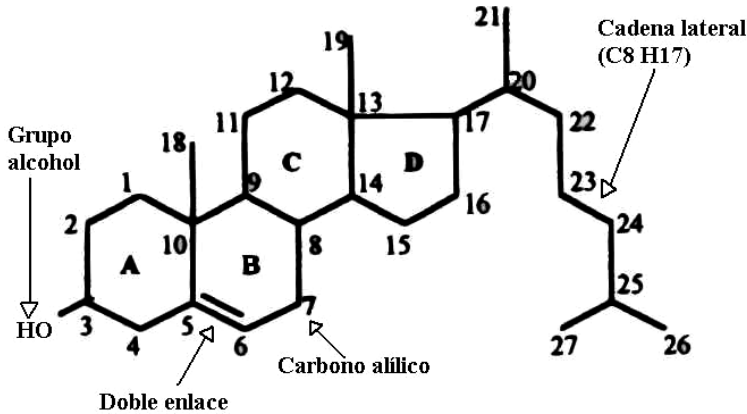


Figura 1: Estructura química de la molécula de colesterol.

cial, son más proclives a ser oxidados (Smith 1981).

El colesterol es susceptible de sufrir reacciones de oxidación en presencia de oxígeno, luz, iones metálicos y de otras sustancias capaces de generar compuestos reactivos (Nawar 1985; Maerker 1987; Pie et al., 1990; Yan y White 1990). No obstante, en el caso concreto de la carne y derivados cárnicos, la cadena de reacciones mediada por radicales lipídicos ha sido considerada como la principal vía de formación de oxisteroles (Smith y Teng 1974; Teng y Smith 1976; Engeseth y Gray 1994). Los radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) y los compuestos reactivos derivados de la mioglobina son los principales agentes iniciadores de las reacciones de oxidación lipídica (Kanner et al., 1987; Kanner 1994; Gatellier et al., 1995). Los hidroperóxidos lipídicos generados por autooxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) de membrana y los radicales alcoxilo y peroxilo generados a partir de los mismos, se encargan posteriormente de iniciar la oxidación del colesterol (Engeseth y Gray 1994). La principal ruta de formación de COPS se inicia tras la extracción de un hidrógeno y posterior adición de una molécula de oxígeno en el C₇ del anillo B (Figura 2), lo que da lugar a la formación de 7 α - y

7- β hidroperóxidos de colesterol (Smith 1987; Buttris y Diplock 1988, Chien et al., 1998, Tai et al., 1999). Estos productos primarios de la oxidación del colesterol son altamente inestables, por lo que tienden a sufrir diversos tipos de reacciones que originan una amplia gama de oxisteroles. La reducción de ambos isómeros determina la síntesis de 7 α - y 7 β -hidroxicoles-terol, mientras que su deshidratación induce la aparición de la forma 7-ketocolesterol (Teng et al., 1973). Asimismo, éste último puede surgir tras la descomposición hacia sus respectivos alcoholes de los isómeros 7 α - y 7 β -hidroxicoles-terol y posterior deshidratación (Teng et al., 1973a 1973b; Smith 1987; Nielson et al., 1996). En consecuencia, estos tres compuestos derivados del anillo B han sido identificados como los oxisteroles mayoritarios en distintos tipos de carne y productos cárnicos (Zubillaga y Maerker 1991; Gil 2002; Cayuela 2003).

Cuando la carne es sometida a la acción de factores prooxidantes (especialmente a altas temperaturas) se ponen en marcha otras rutas de oxidación del colesterol. Las reacciones de epoxidación en el anillo B dan lugar a la formación de 5,6 α - y 5,6 β -epóxidos que, por hidratación posterior, inducen la aparición de colestano- triol (Maraschiello 1998, Tai et al., 1999,

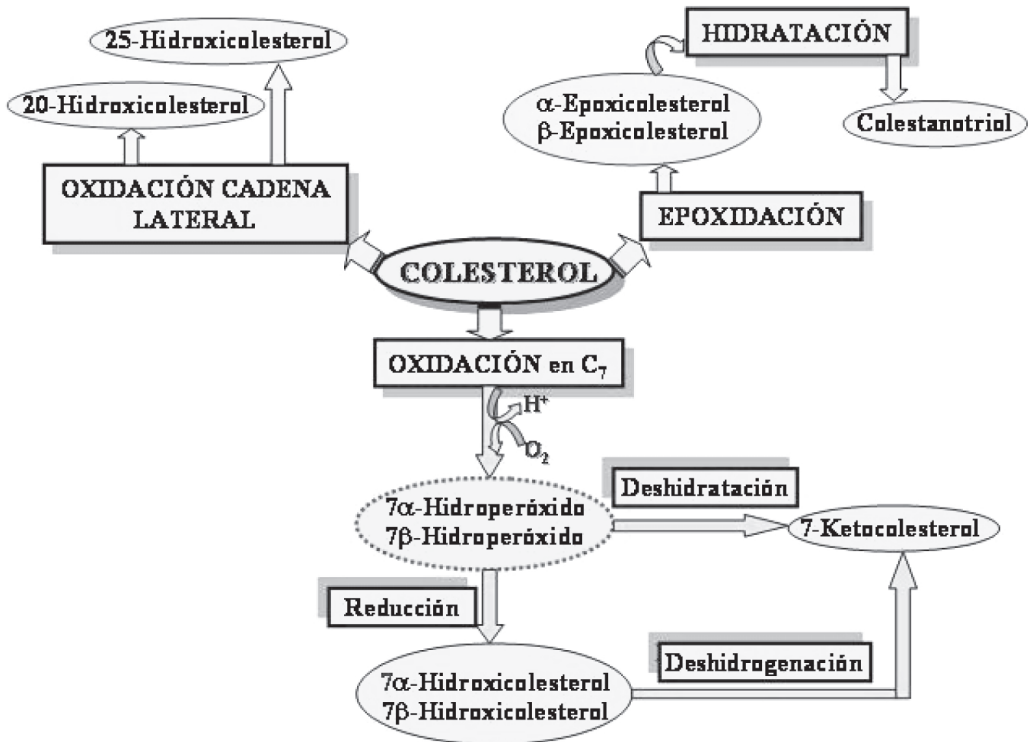


Figura 2. Principales rutas de síntesis de óxidos del colesterol en carne y derivados.

2000). Cuando las reacciones de autooxidación se inician en la cadena lateral se originan 20a-, 24-, 25- y 26-hidroperóxidos (Smith 1996), la mayor parte de los cuales por descomposición térmica, dan lugar a sus respectivos alcoholes: 20a-, 25- y 26-hidroxicolesterol. En cualquier caso, la síntesis de este tipo de oxisteroles requiere de la aplicación de condiciones severas de calentamiento (Lercker 1996).

Además, en el caso concreto de la carne fresca, ha quedado demostrada la coexistencia de una vía de oxidación enzimática. Diversos investigadores han señalado que los sistemas enzimáticos microsomaes NADPH-Citocromo-c-reductasa y citocromo P-540 (7α -hidroxilasa, 25-hidroxilasa) están relacionados con la síntesis de epóxidos, 7α -hidroxicoolesterol, 25-hidroxicolesterol y 20α -hidroxicoolesterol (Wata-

be y Sawahata 1979; Rhee 1988; Kanner 1994; Smith 1996).

2. FACTORES QUE CONDICIONAN LA SÍNTESIS DE ÓXIDOS DEL COLESTEROL

Tal y como ha quedado expuesto, en tanto que el colesterol y los ácidos grasos de los fosfolípidos de membrana se encuentran íntimamente asociados (Figura 3), las reacciones de autooxidación lipídica y la formación de COPS están directamente relacionadas (Park y Addis 1987; Pie et al., 1991; Kowale et al., 1996). Según Kim y Nawar (1991) la estabilidad de los lípidos de la carne está inversamente relacionada con los niveles de colesterol. Además, está demostrado que la presencia de hidroperóxidos

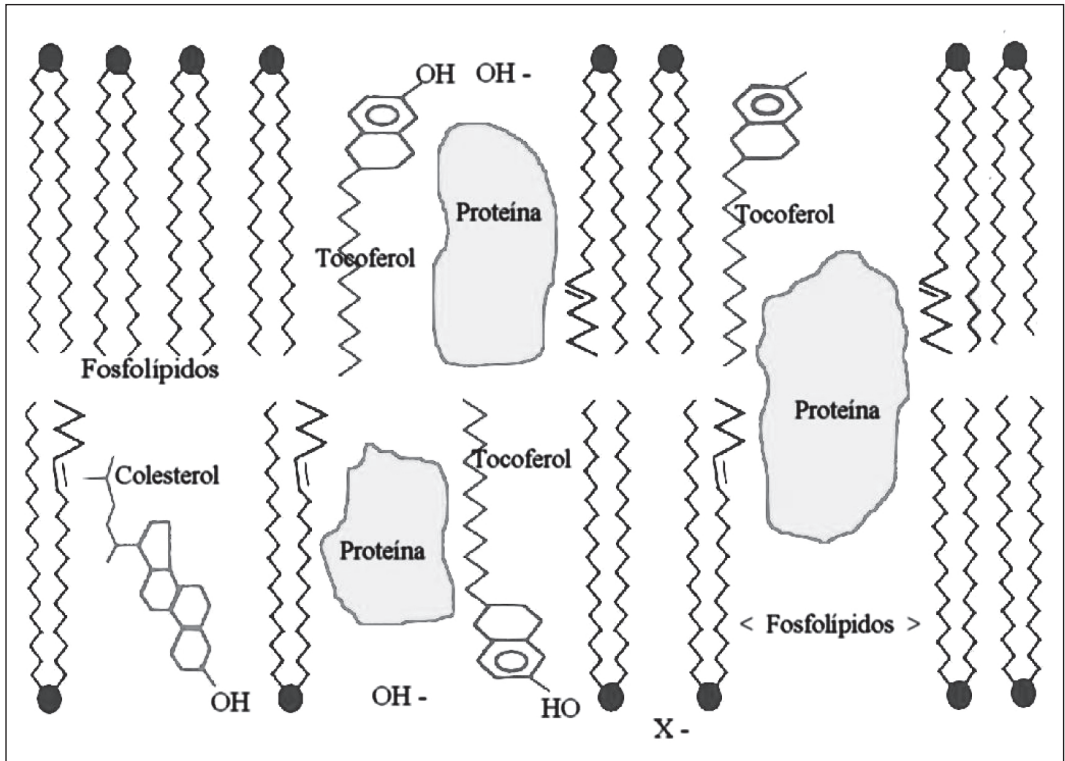


Figura 3. Representación esquemática de la localización del colesterol en el seno de componentes que integran la bicapa lipídica de membrana (adaptado por Morrissey et al., 2000).

lipídicos es un factor determinante para que se inicien las reacciones de oxidación del colesterol de la carne (Osada et al., 1993a). Ambos hechos justifican la correlación positiva observada entre los niveles de TBARS y la concentración de COPS en carne fresca o cocinada (DeVore 1988; Monahan et al., 1992; Galvin et al., 1998; Gil, 2002; Cayuela, 2003).

En consecuencia, tanto la composición lipídica como el tratamiento de procesado y/o conservación a que sea sometida la carne, son los principales factores condicionantes del nivel de oxidación lipídica y de la velocidad de formación de oxisteroles (Higley et al., 1986; Kesava Rao et al., 1996).

2.1. Composición lipídica de la carne

Además de lo anteriormente expuesto, es necesario tener en consideración que la susceptibilidad de los ácidos grasos de membrana a sufrir reacciones de oxidación está directamente relacionada con su grado de insaturación (Ansari y Smith 1979; Korytowski et al., 1992). Este hecho justifica los resultados obtenidos por Carboni et al. (1989) y Kim y Nawar (1991), quienes concluyeron que, en presencia de ácidos grasos, el ratio de oxidación del colesterol se vio incrementado de forma proporcional al grado de insaturación de los mismos. Siguiendo en la misma línea, Smith (1987) y Engeseth y

Cuadro 1. Niveles de óxidos del colesterol cuantificados sobre carne fresca recién almacenada.

COPS ($\mu\text{g/g}$ carne) ¹	Especie			
	Pollo	Vacuno	Ternera	Cerdo
7α-OH	<i>nd</i>	0,33 ^a	0,18 ^a	0,19 ^a
7β-OH	<i>nd</i>	0,34 ^b	0,21 ^a	0,28 ^a /0,2 ^d /0,04 ^c
α-Epoxi	0,07 ^b	0,42 ^a /0,13 ^b /0,05 ^c	0,17 ^a /0,03 ^b /0,07 ^c	0,22 ^a /0,02 ^b /0,02 ^c /0,14 ^c
β-Epoxi	0,06 ^b	1,06 ^a /0,37 ^b /0,13 ^c	0,47 ^a /0,09 ^b /0,14 ^c	0,35 ^a /0,04 ^b /0,03 ^c
20α-OH	<i>nd</i>	0,18 ^a	0,04 ^a	<i>nd</i> ^a
Triol	<i>nd</i>	<i>nd</i> ^a	<i>nd</i> ^a	0,04 ^a /0,02 ^c
25-OH	<i>nd</i>	0,14 ^a	0,05 ^a	0,13 ^a /0,04 ^c
7-Keto	0,13 ^b	1,12 ^a /0,83 ^b /0,21 ^c	0,71 ^a /0,22 ^b /0,23 ^c	0,92 ^a /0,06 ^b /0,03 ^c /0,7 ^d /0,01 ^c

¹ **7 α -OH**: 7 α -hidroxicolesterol; **7 β -OH**: 7 β -hidroxicolesterol; **a-Epoxi**: a-epoxicolesterol; **b-Epoxi**: b-epoxicolesterol; **20 OH**: 20 a-hidroxidolesterol; **Triol**: colestanoetriol; **25-OH**: 25-hidroxicolesterol; **7-Keto**: 7-ketocolesterol; *nd*: no detectado a concentraciones cuantificables

^a Pie et al. (1991); ^b Zubillaga y Maerker (1991); ^c Hwang y Maerker (1993); ^d Echarte et al. (2001);

^e Gil (2002)

Gray (1994) señalaron que la presencia de grasas insaturadas ejerce un efecto sinérgico incrementando la síntesis de oxisteroles.

De todo ello se deduce que el grado de acumulación de COPS viene condicionado, de forma indirecta, por aquellos factores que determinan la composición en ácidos grasos de la carne, siendo la especie animal el principal de ellos. En líneas generales, la carne de animales rumiantes presenta una menor predisposición a sufrir procesos de oxidación del colesterol en comparación con la de monogástricos, especialmente con la de pavo (Park y Addis 1987). Tal diferencia viene determinada por el tipo de metabolismo lipídico propio de cada especie. Los rumiantes hidrogenan la grasa ingerida antes de depositarla como lípidos tisulares (Wood y Enser 1997; Schaefer, 2000), mientras que los monogástricos la incorporan de forma intacta en músculo. Asimismo, este hecho justifica que el perfil de ácidos grasos en carne de pollo, pavo y cerdo pueda verse modificado en fun-

ción al aporte y a la composición de la grasa del pienso (Warnants et al., 1996; Wenk et al., 2000).

No obstante, los estudios realizados hasta el momento no ofrecen conclusiones precisas en cuanto a la relación existente entre el tipo de carne y el grado de oxidación del colesterol de la misma. En el Cuadro 1 se recogen algunos de los resultados obtenidos en carne fresca de distintas especies de abasto, observándose una marcada variabilidad entre autores. Tales diferencias pueden ser debidas, entre otras causas, tanto a las variaciones composicionales propias de cada paquete muscular (Bodwell y Anderson 1986), como a las diferencias en la sensibilidad de la metodología aplicada. Si bien Addis y Warner (1991) y Pie et al. (1991) concluyeron que los niveles de COPS en carne fresca son mínimos o inexistentes, en otros trabajos se han detectado cantidades apreciables de 7 α - y 7 β -hidroxicolesterol y de 7-ketocolesterol en hamburguesas frescas inmediatamente antes de ser almacenadas (Nam et al., 2001).

2.2. Procedimientos de cocinado

La aplicación de temperaturas de cocinado acelera en gran medida las reacciones de oxidación lipídica (Pearson et al., 1983; Tichivangana y Morrissey 1985; Rhee et al., 1996), disminuyendo en consecuencia la estabilidad oxidativa del colesterol de membrana. De hecho, diversos autores han señalado que la concentración de COPS de la carne fresca puede incrementarse hasta 10 veces tras ser sometida a distintos tratamientos culinarios (Park y Addis 1985, 1987; Pie et al., 1991; Paniangwait et al., 1995).

En cualquier caso, tanto las condiciones de tiempo-temperatura como el método de cocinado aplicado, ejercen un efecto significativo sobre el grado de formación de oxisteroles. En este sentido, Nourooz-Zadeh y Appelqvist (1989) concluyeron que, en corteza de cerdo fresca no se detectan cantidades cuantificables de óxidos del colesterol. Sin embargo, cuando ésta es sometida a fritura a 170° C se detectan las formas 7 α -OH y 7 β -OH colesterol y cuando la temperatura de cocinado asciende hasta 200° C, aparecen además los óxidos 5,6 α -epoxi, 7-keto y 25-OH colesterol. Siguiendo en esta línea Pie et al. (1991) determinaron que el asado en grill (135° C durante 20 minutos) incrementó los niveles de COPS 1,7, 2,3 y 2,5 veces en carne fresca de vacuno, ternera y cerdo respectivamente, mientras que el asado en horno a 220° C durante 60, 80 y 90 minutos, aumentó la concentración de COPS 3,5, 5,4 y 4,2 veces respectivamente. De forma similar, Gil (2002) demostró que la cantidad de oxisteroles en carne de cerdo recién cocinada a la plancha, es significativamente inferior a la cuantificada sobre muestras sometidas a cocción o a asado en horno. Dicho comportamiento apoya la teoría, de que la generación de óxidos de colesterol aumenta conforme se prolonga el período de calentamiento, propuesta por Chien et al. (1998).

2.3. Tratamientos de irradiación

Los tratamientos de irradiación se vienen utilizando con éxito para inhibir la proliferación de microorganismos en carne y derivados, prolongando así su tiempo de vida útil. Sin embargo, también ha quedado demostrado que la aplicación de radiaciones acelera la oxidación del colesterol por medio de otras rutas distintas a las seguidas durante el cocinado (Maerker 1987), sintetizándose particularmente óxidos derivados del anillo A (Maerker y Jones 1993). Según Hwang y Maerker (1993), en carne irradiada se detectaron 6 COPS (5,6 α -epoxi, 5,6 β -epoxi, 7-keto, 4-colesten-3-ona, 4,6-colestadien-3-ona y 4-colesten-3,6-diona), siendo el 4-colesten-3-ona el oxysterol mayoritario derivado del anillo A. En dicho estudio, estos autores observaron que los niveles de COPS en carne de ternera y cerdo irradiadas aumentaron 3 y 4 veces respectivamente después de 2 semanas de almacenamiento en refrigeración, mientras que en carnes no irradiadas los incrementos se mantuvieron en un rango inferior a 1,6 veces.

Por otra parte, en los trabajos realizados por Osada et al. (1993a) se indica que los tratamientos de irradiación incrementan drásticamente los niveles de 7 α - y 7 β -hidroxicolesterol pero no afectan el nivel de producción de α - y β -epóxidos ni de colestanoetriol. Similares resultados fueron obtenidos por Maerker y Jones (1993) y Jo et al. (1998).

No obstante, tanto la especie como las condiciones de envasado a que sea sometida la carne van a condicionar el efecto de estos tratamientos sobre la estabilidad oxidativa del colesterol. En este sentido, diversos estudios han puesto de manifiesto que el aumento de los niveles de COPS en carne irradiada de cerdo y pavo es más acusado que en carne de vacuno (Hwang y Maerker 1993; Nam et al., 2001). Por otra parte, el envasado a vacío tiende a disminuir considerablemente el grado de síntesis de oxisteroles durante el almacenamiento de la carne irradiada (Lee et al., 2001; Nam et al., 2001).

2.4. Condiciones de envasado y almacenamiento

Los materiales de envasado suponen una barrera física capaz de inhibir o reducir el contacto de la carne con distintos factores oxidantes tales como la luz y el oxígeno atmosférico, al tiempo que el almacenamiento a bajas temperaturas disminuye la velocidad a la que transcurren las reacciones de oxidación de lípidos.

En comparación con el envasado en aerobiosis, las técnicas de envasado en atmósferas modificadas (MAP) y a vacío (VP) consiguen impedir o retrasar eficazmente la síntesis de COPS en carne y derivados. Wang et al. (1995) señalaron el MAP (con una composición del 75% N₂ + 25% CO₂) como el método más efectivo para inhibir la oxidación del colesterol en productos cárnicos, mientras que para Cayuela (2003) los niveles de COPS en carne de cerdo conservada a vacío fueron notablemente inferiores a los obtenidos para el resto de envasados.

El control de los períodos y temperaturas de almacenamiento suponen otra importante herramienta para inhibir y retardar la oxidación del colesterol, prolongando la calidad sanitaria de la carne y productos cárnicos. El almacenamiento a bajas temperaturas y en la oscuridad minimiza la intensidad de los fenómenos de oxidación lipídica (Luby et al. 1986a 1986b) y, por lo tanto, la oxidación del colesterol. En este sentido, Wang et al. (1995) observaron que salchichas almacenadas a temperaturas de refrigeración (4° C) presentaron concentraciones de COPS significativamente inferiores a los de las muestras mantenidas a 15° C. En cualquier caso, bajo condiciones de refrigeración, el tiempo de almacenamiento ejerce un mayor impacto sobre la formación de oxisteroles que la temperatura aplicada (Sander et al., 1989). Además, el grado de oxidación del colesterol puede verse intensificado en presencia de luz, si bien el tipo de reacciones oxidativas difiere del seguido duran-

te la formación de COPS por calentamiento (Maerker 1987).

En casos extremos, cuando la temperatura y el período de almacenamiento son excesivos, la concentración de oxisteroles puede alcanzar concentraciones situadas en el rango de varios cientos de ppm (Park y Addis 1987). Los resultados obtenidos por Pie et al. (1991) mostraron que, tras 3 años de almacenamiento a 22° C, la carne de cerdo deshidratada presentó niveles máximos de 7-keto (260 ppm) y concentraciones muy elevadas de 7 α -OH, 7 β -OH, triol y 5,6 α -epoxi colesterol.

La aplicación de temperaturas de congelación disminuye aún más el nivel de formación de COPS (Galvin et al., 2000), aunque no logra inhibir por completo las reacciones de peroxidación lipídica (Spanier et al., 1992). Esto justifica el hecho de que se hayan detectado niveles cuantificables de COPS en carne fresca y cocinada de vacuno, cerdo y cordero mantenida en congelación durante prolongados períodos de almacenamiento (Pie et al., 1991; Kowale et al., 1996).

2.5. Administración de antioxidantes

A la vista del riesgo que supone para la salud un consumo excesivo de COPS, se han realizado numerosas investigaciones encaminadas a controlar la oxidación del colesterol en carne y productos cárnicos. Tal y como ha quedado anteriormente expuesto, dada la demostrada interrelación existente entre la oxidación de ácidos grasos y del colesterol de membrana (Smith 1981), resulta lógico considerar la utilización de antioxidantes como una interesante herramienta para retrasar y minimizar la síntesis de óxidos de colesterol en carne y derivados.

En este sentido, diversos estudios confirman la efectividad de distintos compuestos naturales y sintéticos disminuyendo los niveles de COPS e inhibiendo la oxidación del colesterol inducida por sustancias oxidantes (peróxido de hidrógeno y óxido nitroso) y prooxidantes (iones

metálicos) en una amplia gama de productos alimenticios (Morgan y Armstrong 1987; Huber et al., 1995; Guardiola et al., 1997).

Sin embargo, no todos los antioxidantes naturales utilizados en la industria cárnica reducen eficazmente el grado de acumulación de oxisteroles. En trabajos llevados a cabo sobre sistemas cárnicos modelo, Rankin y Pike (1993) observaron que, si bien la oleorresina de romero y la quercitina no lograban una reducción significativa en los niveles de COPS, el α -tocoferol disminuía considerablemente la formación de óxidos del colesterol durante el calentamiento del sistema. Además, el efecto protector del α -tocoferol sobre la estabilidad oxidativa del colesterol se potencia cuando este es administrado de forma conjunta con otros antioxidantes de efecto sinérgico, tales como el ácido ascórbico (Park y Addis 1986a) o la carnosina (O'Neill et al. 1999)

En cualquier caso, la efectividad del tratamiento antioxidante está en relación, tanto con la dosis de compuesto activo utilizada y la forma de administración (exógena o en la dieta), como con las condiciones de procesado aplicadas sobre la carne. Si bien el propil galato y el α -tocoferol poseen actividad antioxidante a bajas concentraciones, >100 ppm y 100-300 ppm respectivamente (Madhavi et al., 1995; Guardiola et al., 1997), a elevados niveles ambas sustancias actúan como prooxidantes, siendo capaces de incrementar el ratio de síntesis de COPS (Sagers 1991; Rankin y Pike 1993; Madhavi et al., 1995). Asimismo, en un gran número de estudios se demuestra que, en comparación con la adición directa de α -tocoferol a los productos cárnicos, la suplementación de la dieta con altas dosis de acetato de α -tocoferol disminuye en mayor grado la velocidad de formación de COPS en carne y derivados (Monahan et al., 1992; Engeseth et al., 1993; Galvin et al., 1998; López-Bote et al., 1998; O'Neill et al., 1999). No obstante, el tipo de músculo (Galvin et al., 2000), la concentración tisular de α -tocoferol (Dougherty 1988) y el porcentaje de áci-

dos grasos insaturados introducidos con la dieta (Maraschiello et al., 1997; Rey et al., 2001) inducen cambios considerables en cuanto a los resultados obtenidos.

En general, la mayor parte de investigadores concluyen que la vitamina E aportada con la dieta inhibe la autooxidación del colesterol inducida por los tratamientos de irradiación o por el cocinado, lo que parece estar relacionado con su deposición entre los PUFAS integrantes de los fosfolípidos de membrana (Fukuzawa y Fujii 1992). En esta localización (Figura 3), el α -tocoferol actúa como un efectivo antioxidante "rompedor de cadena", reduciendo la formación de radicales peroxilo encargados de iniciar la cascada de reacciones implicada en la generación de oxisteroles (Osada et al., 1993b) y de radicales lipídicos capaces de atacar al colesterol que los rodea (Buckley et al., 1995). Dicha teoría justifica los resultados obtenidos por Galvin et al. (1998), quienes manifestaron que 400 ppm de acetato de α -tocoferol son suficientes para minimizar el efecto prooxidante derivado de la aplicación de γ -radiaciones en carne cocinada de pollo.

Por otra parte, Park y Addis (1986a,b) indicaron que la mezcla α -tocoferol-palmitato de ascorbilo es capaz de disminuir significativamente los niveles de COPS en manteca sometida a calentamiento moderado (135° C), si bien dicho efecto resulta menos evidente tras la aplicación de temperaturas más elevadas (165 y 180° C). De forma similar, Gil (2002) puso de manifiesto que, la suplementación del pienso con 200 ppm de acetato de α -tocoferol reduce a la mitad la concentración de oxisteroles en carne de cerdo recién cocinada, si bien los porcentajes de reducción se situaron en un rango superior en filetes cocidos en agua o asados en horno que en aquellos cocinados a la plancha.

Como ventaja adicional, diversos estudios han confirmado que los inferiores niveles de COPS en carne cocinada procedente de animales suplementados con vitamina E se mantiene durante el período de almacenamiento (Monahan

han et al., 1992b; Engeseth et al., 1993; Galvin et al., 1998a), resistiendo incluso los procesos de recalentamiento previos al consumo de la carne y preparados cárnicos precocinados (Gil, 2002).

CONCLUSIONES:

El colesterol de la carne es muy susceptible de sufrir reacciones de oxidación, lo que da origen a la formación de compuestos potencialmente tóxicos. Si bien los óxidos del colesterol aparecen ya durante el almacenamiento de la carne fresca, su nivel de producción se incrementa considerablemente tras la aplicación de técnicas habituales de procesado. En consecuencia, una ingesta prolongada de este tipo de productos, junto a otros factores determinantes, podría contribuir a la aparición de diversas patologías en el organismo humano.

Si bien son conocidos los principales factores implicados en la generación de oxisteroles en carne y derivados, la variabilidad en los resultados publicados en la bibliografía dificulta enormemente su contrastación e impide hablar en términos absolutos. Como se ha señalado en el trabajo, las diferencias en la sensibilidad de las técnicas empleadas para la identificación y cuantificación de oxisteroles son una de las principales causas de tales variaciones. Dada la complejidad del tema, la evaluación de la efectividad de las distintas técnicas analíticas así como los avances instrumentales alcanzados en los últimos años serán objeto de un nuevo trabajo.

BIBLIOGRAFÍA:

- Addis P.B., Warner G.J. 1991. The potential health aspects of lipid oxidation products in food. En: Free radicals and food additives, pp. 77-119. Eds. Arouma O.I., Halliwell B. Taylor and Francis Ltd. London, UK.
- Ansari G.A.S., Smith L.L. 1979. High-performance liquid chromatography of cholesterol autoxidation products. *J. Chromatogr. A* 175: 307-315.
- Bodwell C.E., Anderson B.A. 1986. Nutritional composition and value of meat products. En: *Muscle as Food*, pp. 321-360. Ed. Bechtel P. J. Academic Press. Orlando.
- Böesinger S., Luf W., Brandl E. 1993. Oxysterols: their occurrence and biological effects. *Int. Dairy J.* 3: 1-33.
- Buckley D.J., Morrissey P.A., Gray J.I. 1995. Influence of dietary Vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *J. Anim. Sci.* 73: 3122-3150.
- Buttris J.L., Diplock A.T. 1988. The relationship between α -tocopherol and phospholipid fatty acids in rat liver subcellular membrane fractions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 962: 81-90.
- Carboni M.F., Zullo C., Boschelle O., Lercker G., Capella P. 1989. Cholesterol oxidation in model system. Fifth European Conference of Food Chemistry, Versaille, France, pp. 131-136.
- Cayuela J.M. 2003. Efecto de la suplementación con acetato de α -tocoferol y del envasado en atmósferas protectoras en la oxidación de la carne de cerdo. Tesis doctoral. Universidad de Murcia.
- Chien J.T., Wang H.C., Chen B.H. 1998. Kinetic model of the cholesterol oxidation during heating. *J. Agr. Food Chem.* 46: 2572-2577.
- De Vore V.R. 1988. TBA values and 7-ketocholesterol in refrigerated raw and cooked ground beef. *J. Food Sci.* 53: 1058-1060.
- Dionisi F., Golay P.A., Aeschlimann J.M., Fay L.B. 1998. Determination of cholesterol oxidation products in milk powders: Methods comparison and validation. *J. Agr. Food Chem.* 46: 2227-2233.
- Dougherty M.E. 1988. Tocopherols and food antioxidants. *Gen. Foods World.* 33: 222-223.
- Emanuel H.A., Hazle C.A., Addis P.B., Bergman S.D., Zavoral J.H. 1991. Plasma cholesterol oxidation products oxysterols in hu-

- mans fed a meal rich in oxysterols. *J. Food Sci.* 56: 843-847.
- Engeseth N.J., Gray J.I. 1994. Cholesterol oxidation in muscle tissue. *Meat Sci.* 36: 309-320.
- Engeseth N.J., Gray J.I., Booren A.M., Asghar A. 1993. Improved oxidative stability of veal lipids and cholesterol through dietary vitamin E supplementation. *Meat Sci.* 35: 1-15.
- Finocchiaro E.T., Lee K., Richardson T. 1984. Identification and quantification of cholesterol oxides in grated cheese and bleached butteroil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61: 877-883.
- Finocchiaro E.T., Richardson T. 1983. Sterol oxides in food-stuffs: a review. *J. Food Protect.* 46: 917-925.
- Fukuzawa K., Fujii T. 1992. Peroxide dependent and independent lipid peroxidation: site-specific mechanisms of initiation by chelated iron and inhibition by α -tocopherol. *Lipids* 27: 227-232.
- Galvin K., Lynch A.-M., Kerry J.P., Morrissey P.A., Buckley D.J. 2000. Effect of dietary vitamin E supplementation on cholesterol oxidation in vacuum packaged cooked beef steaks. *Meat Sci.* 55: 7-11.
- Galvin K., Morrissey P.A., Buckley D.J. 1998. Cholesterol oxides in processed chicken muscle as influenced by dietary α -tocopherol supplementation. *Meat Sci.* 48(1/2): 1-9.
- Gatellier P., Anton M., Renner M. 1995. Lipid peroxidation induced by H₂O₂-activated metmyoglobin and detection of a myoglobin-derived radical. *J. Agr. Food Chem.* 43: 651-656.
- Gil M.D. 2002. Efecto del método de cocinado y de la suplementación de la dieta con vitamina E sobre la calidad de la carne de cerdo durante su almacenamiento en refrigeración. Tesis doctoral. Universidad de Murcia.
- Guardiola F., Codony R., Addis P.B., Rafecas M., Boatella J. 1996. Biological effects of oxysterols: current status. *Food Chem. Toxicol.* 34: 193-211.
- Guardiola F., Codony R., Rafecas M., Grau A., Jordan A., Boatella J. 1997. Oxysterol formation in spray-dried egg processed and stored under various conditions: Prevention and relationship with other quality parameters. *J. Agr. Food Chem.* 45: 2229-2243.
- Hennings B., Boissonneault G. A. 1987. Cholestan-3 β , 5 α , 6 β -triol decrease barrier function of cultured endothelial cell monolayers. *Atherosclerosis* 68: 255-261.
- Higley N.A., Taylor S.L., Herian A.M., Lee K. 1986. Cholesterol oxides in processed meats. *Meat Sci.* 16: 175-188.
- Huber K.C., Pike O.A., Huber C.S. 1995. Antioxidant inhibition of cholesterol oxidation in a spray-dried food system during accelerated storage. *J. Food Technol.* 12: 37-47.
- Hwang K.T., Maerker G. 1993. Quantitation of cholesterol oxidation products in unirradiated and irradiated meats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70(4): 371-375.
- Jo C., Ahn D.U., Lee J.I. 1998. Lipid and cholesterol oxidation, color changes and volatile production in irradiated raw pork batters with different fat content. *J. Food Quality.* 22: 641-651.
- Kanner J. 1994. Oxidative process in meat and meat products: quality implications. *Meat Sci.* 36(1): 169-189.
- Kanner J., German J.B., Kinsella J.E. 1987. Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Crit. Rev. Food Sci.* 25(4): 317-364.
- Kesava Rao V., Kowale B.N., Babu N.P., Bisht G.S. 1996. Effect of cooking and storage on lipid oxidation and development of cholesterol oxidation products in water buffalo meat. *Meat Sci.* 43: 179-185.
- Kim S.K., Nawar W.W. 1991. Oxidation interactions of cholesterol with triacylglycerols. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68: 931-934.
- Korytowski W., Bachowski G.J., Girotti A.W. 1992. Photoperoxidation of cholesterol in homogeneous solution, isolated membranes, and cells: Comparison of the 5 α - and 6 β -hydroperoxides as indicators of singlet oxy-

- gen intermediacy. *Photochem. Photobiol.* 56: 1-8.
- Kowale B.N., Rao V.K., Babu N.P., Sharma N., Bisht G.S. 1996. Lipid oxidation and cholesterol oxidation in mutton during cooking and storage. *Meat Sci.* 432: 195-202.
- Lee J.I., Kang S., Ahn D.U., Lee M. 2001. Formation of cholesterol oxides in irradiated raw and cooked chicken meat during storage. *Poultry Sci.* 80: 105108.
- Lercker G. 1996. Ossidazione dei lipidi degli alimenti: meccanismi e fattori pro-ossidanti e anti-ossidanti. En: *Ruolo delle sostanze antiossidanti della dieta nel mantenimento della salute.* pp. 163-208. Milano: Centro Studi Alfonso Sada.
- López-Bote C.J., Gray J.I., Gomaa E.A., Flegal C.J. 1998. Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *Brit. Poultry Sci.* 39: 235-240.
- Luby J.M., Gary J.I., Harte B.R. 1986a. Effects of packaging and light source on the oxidative stability of cholesterol in butteroil. *J. Food Sci.* 51: 908-911.
- Luby J.M., Gary J.I., Harte B.R., Ryan T.C. 1986b. Photooxidation of cholesterol in spray-dried egg yolk upon irradiation. *J. Food Sci.* 33: 581-587.
- Madhavi D.L., Singhal R.S., Kulkarni P.R. 1995. Technological aspects of food antioxidants. En: *Food Antioxidants: Technological, Toxicological and Health Perspectives.* Eds. Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K. Dekker, New York, USA.
- Maerker G. 1987. Cholesterol autoxidation-current status. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 64: 388-392.
- Maerker G., Jones K.C. 1993. A-ring oxidation products from γ -irradiation of cholesterol in liposomes. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70: 451-455.
- Maraschiello C. 1998. Cholesterol Oxidation and parameters related to lipid oxidation in raw and cooked meat from broilers fed dietary oils and fat, natural antioxidants and prooxidants. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Maraschiello C., García Regueiro J.A., Esteve E. 1997. La oxidación del colesterol y su influencia en la calidad de la carne y productos derivados. *Eurocarne* 53: 67-74.
- Monahan F.J., Gray J.I., Booren A.M., Miller E.R., Buckley D.J., Morrissey P.A., Gomaa E.A. 1992. Influence of dietary treatment on lipid and cholesterol oxidation in pork. *J. Agr. Food Chem.* 40: 1310-1315.
- Morgan J.N., Armstrong D.J. 1987. Formation of cholesterol-5,6-epoxides during spray-drying of egg yolk. *J. Food Sci.* 52: 1224-1227.
- Nam K.C., Du M., Jo C., Ahn D.U. 2001. Cholesterol oxidation products in irradiated raw meat with different packaging and storage time. *Meat Sci.* 58: 431-435.
- Nawar W.W. 1985. Lipids. En: *Food Chemistry.* Ed. Fennema O.R. Marcel Dekker, New York.
- Nielson J.H., Olsen C.E., Skibsted L. H. 1996. Cholesterol oxidation I a heterogeneous system initiated by water-soluble radicals. *Food Chem.* 56: 33-37.
- Nourooz-Zadeh J., Appelquist L.A. 1987. Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: Fresh eggs and dehydrated egg products. *J. Food Sci.* 52: 57-67.
- Nourooz-Zadeh J., Appelquist L.A. 1989. Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: Lard and bacon. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 66: 586-592.
- O'Neill L.M., Galvin K., Morrissey P.A., Buckley D.J. 1999. Effect of carnosine, salt and dietary vitamin E on the oxidative stability of chicken meat. *Meat Sci.* 49: 89-94.
- Osada K., Kodama T., Cui L., Yamada K., Sugano M. 1993a. Levels and formation of oxidized cholesterols in processed marine foods. *J. Agr. Food Chem.* 41: 1893-1898.
- Osada K., Kodama T., Yamada K., Sugano M. 1993b. Oxidation of cholesterol by heating.

- J. Agr. Food Chem. 41: 1198-1202.
- Paniangvait P., King A.J., Jones A.D., German B.G. 1995. Cholesterol oxides in foods of animal origin. *J. Food Sci.* 606: 1159-1174.
- Park P.S.W., Addis P.B. 1985. HPLC determination of C-7 oxidized cholesterol derivatives in foods. *J. Food Sci.* 50: 1437-1441.
- Park P.S.W., Addis P.B. 1986a. Identification and quantitative estimation of oxidized cholesterol derivatives in heated tallow. *J. Agr. Food Chem.* 34: 653-659.
- Park P.S.W., Addis P.B. 1986b. Further investigation of oxidized cholesterol derivatives in heated fats. *J. Food Sci.* 51: 1380-1381.
- Park S.W., Addis P.B. 1987. Cholesterol oxidation products in some muscle foods. *J. Food Sci.* 52: 1500-1503.
- Pearson A.M., Gray J.I., Wolzak A.M., Horenstein N.A. 1983. Safety implications of oxidized lipids in muscle foods. *Food Technol.* 37: 121-129.
- Penazzi G., Carboni M.F., Zunin P., Evangelisti F., Tiscornia R., Gallina Toschi T., Lercker G. 1995. Routine high-performance chromatographic determination of free 7-ketocholesterol in some foods by two different analytical methods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72: 1523-1527.
- Peng S.-K., Hu B., Morin R.J. 1991. Angiotoxicity and atherogenicity of cholesterol oxides. *J. Clin. Lab. Anal.* 5, 144-152.
- Peng S.-K., Taylor C.B. 1984. Cholesterol autoxidation, health and arteriosclerosis. *World Rev. Nutr. Diet.* 44: 117-154.
- Pie J.E., Spahis K., Seillan C. 1990. Evaluation of oxidative degradation of cholesterol in food and food ingredients: identification and quantification of cholesterol oxides. *J. Agric. Food Chem.* 38: 973-979.
- Pie J.E., Spahis K., Seillan C. 1991. Cholesterol oxidation products in meat products during cooking and frozen storage. *J. Agr. Food Chem.* 39: 250-254.
- Rankin S.A., Pike O.A. 1993. Cholesterol autoxidation inhibition varies among several natural antioxidants in an aqueous model system. *J. Food Sci.* 58: 653-655.
- Rey A.I., Kerry J.P., Lynch P.B., López-Bote C.J., Buckley D.J., Morrissey P.A. 2001. Effect of dietary oils and α -tocopheryl acetate supplementation on lipid TBARS and cholesterol oxidation in cooked pork. *J. Anim. Sci.* 79: 1201-1208.
- Rhee K.S. 1988. Enzymic and nonenzymic catalysis of lipid oxidation in muscle foods. *Food Technol.* 426: 127-132.
- Rhee K.S., Anderson, L.M., Sams, A.R. 1996. Lipid oxidation potential of beef, chicken and pork. *J. Food Sci.* 61: 8-12.
- Sagers P.A. 1991. Cholesterol autoxidation inhibition by phenolic antioxidants in an aqueous model system. M.S. Thesis, Brigham Young University, Provo, UT.
- Sander B.D., Smith D.E., Addis P.B., Park S.W. 1989. Effects of prolonged and adverse storage conditions on levels of cholesterol oxidation products in dairy products. *J. Food Sci.* 54: 874-879.
- Schaefer D.M. 2000. Potential for altering quality of muscle and milk from ruminants. En: *Antioxidant in Muscle Foods: Nutritional Strategies to improve quality.* pp. 155-197. Decker, E., Faustman, C., Lopez-Bote, C. Eds.. Wiley-Interscience. New York.
- Smith L.L. 1987. Cholesterol autoxidation. *Chem. Phys. Lipids.* 44: 87-125.
- Smith L.L. 1996. Review of progress in sterol oxidations: 1987-1995. *Lipids* 315: 453-477.
- Smith L.L., Teng J.Y. 1974. Sterol metabolism. XXIX. On the mechanism of microsomal lipid peroxidation in rat liver. *J. Am. Chem. Soc.* 968: 2640-2641.
- Spanier A.M., Vercellotti J.R., James C.Jr. 1992. Correlation of sensory, instrumental and chemical attributes of beef as influenced by meat structure and oxygen exclusion. *J. Food Sci.* 571: 10-15.
- Staprans I., Rapp J.H., Pan X.M. 1998. Oxidized lipids in the diet are a source of oxidized lipid in chylomikrons of human

- serum. *Arter. Thromb. Vasc. Biol.* 14: 1900-1905.
- Tai C.-Y., Chen Y.C., Chen B.H. 1999 Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: an overview Part I. *J. Food Drug Anal.* 74: 243-257.
- Tai C.-Y., Chen Y.C., Chen B.H. 2000 Analysis, formation and inhibition of cholesterol oxidation products in foods: an overview Part II. *J. Food Drug Anal.* 81: 1-15.
- Teng J.I., Kulig M.J., Smith L.L., Kan G., Van Lier J.E. 1973a. Sterol metabolism. XX. Cholesterol 7b-hydroperoxide. *J. Am. Chem. Soc.* 381: 119-123.
- Teng J.I., Kulig M.J., Smith L.L. 1973b. Sterol metabolism. XXII. Gas chromatographic differentiation among cholesterol hydroperoxides. *J. Chromatogr.* 75: 108-113.
- Teng J.I., Smith L.L. 1976. XXXVII. On the oxidation of cholesterol by dioxygenases. *Bioorg. Chem.* 5: 99-119.
- Tichivangana J.Z., Morrissey P.A. 1985. Metamyoglobin and inorganic metals as pro-oxidants in raw and cooked muscle systems. *Meat Sci.* 15: 107-116.
- Wang F.-S., Jiang Y.-N., Lin C.-W. 1995. Lipid and cholesterol oxidation in Chinese-style sausage using vacuum and modified atmosphere packaging. *Meat Sci.* 40: 93-101.
- Warnants N., Oeckel M., Boucque C.V. 1996. Incorporation of dietary polyunsaturated fatty acids in pork tissues and its implications for the quality of the end products. *Meat Sci.* 44: 125-144.
- Watabe T., Sawahata T. 1979. Biotransformation of cholesterol to cholestane-3 β ,5 α ,6 β -triol via cholesterol a-epoxide 5 α ,6 α -epoxycholestan-3 β -ol in bovine adrenal cortex. *J. Biol. Chem.* 254: 3854-3860.
- Wenk C., Leonhardt M., Scheeder M.R.L. 2000. Monogastric nutrition and potential for improving muscle quality. En: *Antioxidant in Muscle Foods: Nutritional Strategies to improve quality*. pp. 199-227. Decker, E., Faustman, C., Lopez-Bote, C. Eds.. Wiley-Interscience. New York.
- Wood J.D., Enser M. 1997. Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *Brit. J. Nutr.* 78: 49-60.
- Yan P.S., White P.J. 1990. Cholesterol oxidation in heated lard enriched with two levels of cholesterol. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 67: 927-931.
- Zhang W.B., Addis P.B., Krick T.P. 1991. Quantification of 5 α -cholestane-3 β ,5 α ,6 β -triol and other cholesterol oxidation products in fast food French fried potatoes. *J. Food Sci.* 56: 716-718.
- Zubillaga M.P., Maerker G. 1991. Quantification of three Cholesterol Oxidation Products in raw meat and chicken. *J. Food Sci.* 565: 1194-1202.