

CONTENIDO DE BIOPÉPTIDOS Y ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA *IN VITRO* DE CARNE DE CORDERO DE DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN.

CHAMORRO, V. ^{1*}; PERANIC, V. ²; GODOY, M.F. ^{1,3}; BAIN, I. ⁴; CEBALLOS, D. ⁵; GRIGIONI, G.M. ^{1,2,6}; PIGHIN, D.G. ^{1,2,6} y PAZOS, A. ^{1,2}

¹ INTA - Instituto Tecnología de Alimentos, Buenos Aires. ² Facultad de Agronomía y Ciencias Agroalimentarias - Universidad de Morón, Buenos Aires. ³ Facultad de Farmacia y Bioquímica - Universidad de Buenos Aires. ⁴ INTA EEA-Chubut. ⁵ INTA EEA-Esquel. ⁶ CONICET Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

*e-mail: chamorro.veronica@inta.gob.ar

RESUMEN

Los péptidos bioactivos presentes en diversos alimentos son objetivo de estudio ya que se ha encontrado que cumplen diversos roles fisiológicos que impactan positivamente en la salud. En particular, en el músculo esquelético pueden encontrarse tanto dipéptidos antioxidantes endógenos como proteínas precursoras de péptidos bioactivos, los cuales pueden ser liberados por acción de las enzimas digestivas una vez que son consumidos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia del sistema de producción sobre el contenido de dos péptidos endógenos, carnosina y anserina, en carne de cordero y la actividad antihipertensiva *in vitro* luego de simular un proceso de digestión gastrointestinal. Los resultados obtenidos respecto a los dipéptidos no presentaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al sistema de producción empleado. En cuanto a la actividad antihipertensiva se halló una inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) del 50%, no habiendo diferencias estadísticamente significativas entre los sistemas estudiados. La presencia de estos dipéptidos y la manifestación de la actividad antihipertensiva *in vitro* valorizan la carne de cordero desde el punto de vista nutracéutico/funcional y aportan información sobre los beneficios del consumo de dicha carne.

Palabras claves

Péptidos bioactivos, carne de cordero, actividad antihipertensiva.

INTRODUCCIÓN

Los péptidos bioactivos son secuencias de 2 a 20 aminoácidos que, además de su valor nutricional, ejercen un efecto fisiológico en el cuerpo humano cuando el alimento es consumido impactando beneficiosamente en la salud. Pueden estar presentes naturalmente en el alimento o liberarse de la matriz proteica por acción de las enzimas digestivas (Ryan *et al* 2011). Tanto la carne como sus subproductos son fuente de dichos péptidos-o biopéptidos-en donde los roles fisiológicos reportados abarcan desde actividad antioxidante, antihipertensiva, hasta antimicrobiana y antiproliferativa. (Lafarga 2014, Di Bernardini *et al* 2011; Jan *et al* 2008). En particular, las actividades antioxidante y antihipertensiva resultan de especial interés ya que es sabido que la hipertensión y el estrés oxidativo (producido por el exceso de radicales libres) juegan un papel importante en el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares (ECV) (Lafarga, 2014). La incorporación de péptidos bioactivos a la dieta favorecería el estado de salud ya que, por lo previamente descripto, ayudarían a prevenir éstas enfermedades (Cicero *et al* 2017, Di Bernardini *et al* 2011). En referencia a esto, los dipéptidos imidazólicos carnosina (β -alanil-L-histidina) y anserina (N- β -alanil-1-metil-L-histidina) se encuentran en grandes cantidades en músculo esquelético, especialmente en aquellos con metabolismo glucolítico (Aristoy y Toldrá, 1998). Estos dipéptidos constituyen los antioxidantes más abundantes en carnes. Es sabido que el

contenido de estos compuestos puede verse afectado por diversos factores como por ejemplo la especie, el tipo de músculo, el género y la edad, entre otros (Purchas *et al* 2004, Liu 2011, Chan y Decker 1994). Asimismo, este grupo de trabajo de trabajo ha reportado que el sistema de producción es un parámetro que también influye sobre el contenido de carnosina y anserina en carne bovina (Chamorro *et al* 2014b). En particular se observó que al analizar la carne de novillos de la raza Angus criados en un sistema de pastura el valor obtenido en anserina fue mayor que aquellos novillos criados en un sistema a base de grano.

La carne de cordero en Argentina presenta un bajo consumo en comparación a otras carnes. Esta tendencia viene dada por diferentes factores como la falta de hábito y la falta de disponibilidad en el mercado, entre otros (IPCVA y TNS Gallup, 2008). Por otro lado en nuestro país hay poca información acerca del impacto en la salud de los compuestos bioactivos en carnes en general. En este sentido, caracterizar a la carne de cordero desde el punto de vista nutracéutico podría aportar información de relevancia para favorecer su consumo. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue cuantificar carnosina y anserina endógenas en carne de corderos alimentados bajo dos sistemas de producción Corral (C) y Pastura (P); y evaluar el efecto dichos sistemas sobre la actividad antihipertensiva *in vitro* de dichas carnes sometidas a un proceso de digestión simulada. Con este segundo enfoque se espera ampliar la caracterización de esta carne desde una perspectiva saludable para el consumidor.

MATERIALES Y MÉTODOS

La carne de cordero fue obtenida a partir de animales de raza Merino provenientes de dos sistemas de producción, C y P. C; 6 animales alimentados en CORRAL con Balanceado Comercial y, P; 6 animales alimentados en PASTURA con suplementación final (mallines con pastoreo rotativo y posterior suplementación con el mismo Balanceado en menores dosis). Los corderos fueron criados en el campo experimental de INTA-Esquel, zona sur de la República Argentina.

Los animales fueron faenados cuando el 80% de ellos alcanzó 28 kg de peso vivo (PV) y una condición corporal (CC) ≥ 3 . Durante el despostado, se recogieron muestras del músculo *Longissimus dorsi* (LD) las cuales fueron maduradas durante 3 días a 4°C, bajo vacío y en oscuridad.

La cuantificación de carnosina y anserina fue llevada a cabo por HPLC según Chamorro et al (2014a). Brevemente, para la extracción de los dipéptidos se homogeneizó la carne de cordero con ácido tricloroacético 7.5% (TCA) (Biopack®) para precipitar las proteínas y solubilizar los dipéptidos (relación 1:2 m/v) utilizando Ultraturrax durante 2 min a 20000 rpm en baño de hielo. El homogenato obtenido se centrifugó a 2600 x g por 15 min a 4 °C. Finalmente se separó el sobrenadante y se guardó a -20°C hasta su análisis por HPLC.

Para la cromatografía se utilizó una columna de intercambio catiónico Zorbax® 300-SCX (4,6x250mm y 5µm) y FM de KH₂PO₄ 90mM pH 5,0 con 10% de MeOH (Sintorgan®) grado HPLC. El flujo de corrida fue de 1.0 mL/min, la temperatura de la columna de 55°C y la detección fue con UV a 210 nm.

La actividad antihipertensiva *in vitro* se estudió a través del ensayo de inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) por acción de la carne luego de ser sometida a un proceso de simulación gastrointestinal. La ECA es una enzima que cataliza la conversión de la angiotensina I a la angiotensina II, potente vaso constrictor que puede encontrarse en los tejidos del cuerpo y tiene la capacidad de moderar la presión arterial y función cardiaca normal. El ensayo fue realizado según Terashima et al (2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra el contenido de ambos dipéptidos. De dicha tabla se desprende que los dos compuesto bioactivos, carnosina y anserina, se encuentran presentes en la carne de corderos alimentados bajo dos sistemas de producción diferentes.

Tabla 1. Contenido de carnosina y anserina endógena en carne de corderos criados en pastura y corral (*longissimus dorsi*).

Sistema de Producción	Carnosina (mg/g carne)	Anserina (mg/g carne)
Pastura	2,28 (0,29) B	1,66 (0,23) A
Corral	2,11 (0,43) B	1,79 (0,19) A

Los valores son expresados como medias con los desvíos estándares entre paréntesis.

La cantidad observada de estos dipéptidos está en concordancia con lo hallado por otros investigadores en la misma matriz (Carnegie *et al* 1983, Plowman and Close 1988 y Mori *et al* 2015). En referencia al sistema de producción, puede observarse que no hay diferencias significativas para ninguno de los dos dipéptidos estudiados. Esto difiere de lo descrito en la introducción (Chamorro *et al* 2014b) en el cual se estudiaron estos dipéptidos en carne de bovinos criados bajo dos sistemas de alimentación contrastantes. Cabe destacar que no solo la especie animal es diferente sino que también, la dieta de los corderos no fue tan contrastante como la utilizada en el ensayo con bovinos.

En referencia a la actividad antihipertensiva *in vitro* (Tabla 2) se observaron inhibiciones de la enzima ECA del orden del 50% en ambos sistemas, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 2. Porcentaje de inhibición de la enzima ECA

Sistema de Producción	% de inhibición de ECA
Pastura	43,90 (2,16) A
Corral	50,17 (2,37) A

Los valores son expresados como medias con los desvíos estándares entre paréntesis.

A fin de ampliar la información desde el punto de vista nutracéutico, Chamorro y su equipo (2018) encontraron actividad antioxidante *in vitro* en carne de cordero sometida a una simulación gastrointestinal, sin influencia del sistema de producción (C y P).

CONCLUSIÓN

El sistema de producción, C y P, no influyó en el contenido de carnosina y anserina encontrado en carne de cordero del sur argentino. Dicha carne, sometida a la simulación gastrointestinal, mostró actividad antihipertensiva sin diferencias significativas entre los sistemas C y P, exponiendo que la diferente alimentación no modificó esta actividad biológica.

Estos resultados aportan información útil para la valorización y diferenciación de la carne de cordero del sur de la República Argentina, lo cual podría favorecer su comercialización y consumo. Se espera que este trabajo sirva como punto de partida de futuros estudios para valorizar la carne de cordero desde el punto de vista funcional.

REFERENCIAS

Aristoy M.C & Toldrá F. (1998). Concentration of free amino acids and dipeptides in porcine skeletal muscles with different oxidative patterns. *Meat Science*. 50, 327-332.

Chamorro, V.; Peranic, V.; Godoy, M.F; Bain, I; Grigioni, G.M.; Pighín, D.G. y Pazos, A. (2018) Biopéptidos antioxidantes de histidina en carne de corderos criados bajo sistemas de producción contrastante. 41° Congreso de la Asociación Argentina de Producción Animal – AAPA 2018. Mar del Plata. Argentina.

Chamorro V., Giovannini J., Godoy M.F. y Pazos A. (2014a) Optimización de un método cromatográfico para la determinación de anserina y carnosina en carne bovina. IBEROLAB2014: VII Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios, de febrero a noviembre 2014. [Publicación en línea]. <http://www.iberolab.org/opencms/opencms/comunicaciones/Comunicaciones/comunicaciones1/index.html?page=2>

Chamorro, V. C., Pazos, A. A., Godoy, M. F., Pighín, D. G., Cunzolo, S. A., Sancho, A. M., & Grigioni, G. (2014b). Histidine dipeptides and free amino acids of beef from cattle raised under contrasting feeding systems and pre-slaughter management. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 22(5), 612-615.

Carnegie, P.R., Ilic, M.Z., Etheridge, M.O., Collins, M.G. (1983). Improved high-performance liquid chromatographic method for analysis of histidine dipeptides anserine, carnosine and balenine present in fresh meat. *Journal of Chromatography A*, 261, 153-157.

Chan, K. M., Decker, E. A., & Feustman, C. (1994). Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 34(4), 403-426.

Cicero, A. F., Fogacci, F., & Colletti, A. (2017). Potential role of bioactive peptides in prevention and treatment of chronic diseases: a narrative review. *British journal of pharmacology*, 174(11), 1378-1394.

Di Bernardini, R., Harnedy, P., Bolton, D., Kerry, J., O'Neill, E., Mullen, A. M., & Hayes, M. (2011). Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. *Food Chemistry*, 124(4), 1296-1307.

IPCVA y TNS Gallup.2008.Caracterización del Mercado Argentino de Carnes.122° Exposición de Ganadería, Agricultura e Industria Internacional. 24 de julio al 5 de agosto 2008.La Rural, Palermo, Buenos Aires, Argentina.

Jang, A., Jo, C., Kang, K. S., & Lee, M. (2008). Antimicrobial and human cancer cell cytotoxic effect of synthetic angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides. *Food Chemistry*, 107(1), 327-336.

Lafarga, T., & Hayes, M. (2014). Bioactive peptides from meat muscle and by-products: generation, functionality and application as functional ingredients. *Meat science*, 98(2), 227-239.

Liu Qui. (2011). Concentrations of creatine, creatinine, carnosine, and anserine in bovine longissimus muscle and their correlations with carcass and palatability traits. GraduateTheses. Iowa State University

analysis of carnosine and anserine in foods by performing high performance liquid chromatography. *Biomedical Research on Trace Elements*, 26(3), 147-152.

Plowman, J. E. and Close, E. A. (1988), An evaluation of a method to differentiate the species of origin of meats on the basis of the contents of anserine, balenine and carnosine in skeletal muscle. *J. Sci. Food Agric.*, 45: 69-78.

Purchas, R. W., Rutherford, S. M., Pearce, P. D., Vather, R., & Wilkinson, B. H. P. (2004). Concentrations in beef and lamb of taurine, carnosine, coenzyme Q10, and creatine. *Meat Science*, 66(3), 629-637.

Ryan, J. T., Ross, R. P., Bolton, D., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2011). Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. *Nutrients*, 3(9), 765-791.

Terashima, M., Baba, T., Ikemoto, N., Katayama, M., Morimoto, T., & Matsumura, S. (2010). Novel angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from boneless chicken leg meat. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(12), 7432-7436.

BIOPEPTIDES CONTENTS AND *IN VITRO* ANTIHYPERTENSIVE ACTIVITY IN LAMB MEAT OF DIFFERENT PRODUCTION SYSTEMS.

SUMMARY

Bioactive peptides present in foods are object of study as they have been found to fulfill several physiological roles that positively impact on health. In particular, in the skeletal muscle both endogenous antioxidant dipeptides and proteins precursor of bioactive peptides can be found, which can be released by the action of digestive enzymes once they are consumed. The objective of this work was to study the influence of the production system on the content of two endogenous peptides, carnosine and anserine, in lamb meat; and on *in vitro* antihypertensive activity after simulating a gastrointestinal digestion process. The results obtained with respect to the dipeptides did not present significant differences associated to the production system. Regarding antihypertensive activity, a 50% of inhibition of the angiotensin converting enzyme (ACE) was found, with no significant differences between systems studied. The presence of these dipeptides and the manifestation of the *in vitro* antihypertensive activity value lamb meat from a nutraceutical/functional point of view and provide information on the benefits of the consumption of this meat.

Key words

Biopeptides, lamb meat, antihypertensive bioactivity