



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**GANADERÍA**

El uso de la pulpa de café en el estado oxidativo en  
ovinos en engorda, evaluación de la canal, sincronización  
de estros, gestación y lactancia

TEODULO SALINAS RIOS

T E S I S  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO**

2014



La presente tesis, titulada: El uso de la pulpa de café en el estado oxidativo en ovinos en engorda, evaluación de la canal, sincronización de estros, gestación y lactancia, realizada por el alumno: Teodulo Salinas Rios, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**RECURSOS GENETICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**GANADERIA**

**CONSEJO PARTICULAR**

**Consejero Dra. María Teresa Sánchez Esqueda**

**Asesor Dra. María Esther Ortega Cerrilla**

**Asesor Dr. José Luis Figueroa Velasco**

**Asesor Dr. Antonio Díaz Cruz**

**Asesor Dr. Jorge Hernández Bautista**

**Asesor Dra. Raquel Guinzberg Perrusquia**

**Montecillo, Texcoco, México, diciembre de 2014**



# **EL USO DE LA PULPA DE CAFÉ EN EL ESTADO OXIDATIVO EN OVINOS EN ENGORDA, EVALUACIÓN DE LA CANAL, SINCRONIZACIÓN DE ESTROS, GESTACIÓN Y LACTANCIA**

**Teodulo Salinas Rios, Dr.**

**Colegio de Postgraduados 2014**

## **Resumen general**

Se determinó el estado oxidativo de ovinos en diferentes etapas de producción y el uso de la pulpa de café como una fuente de antioxidantes. Se realizaron cinco experimentos. En el primer experimento, la pulpa de café fue ensilada. El ensilaje incrementó la PC, FDN, FDA y lignina. La cafeína disminuyó de 0.57 a 0.50 %. Se detectó ácido gálico, clorogénico y cafeico, este último disminuyó con el ensilaje, aunque la capacidad antioxidante no se modificó. En el segundo experimento 34 ovinos cruzas de Blackbelly fueron distribuidos en tres tratamientos, T0: tratamiento testigo (n=11); T1: tratamiento con 8 % de pulpa de café en la dieta (n=12) y T2: tratamiento con 16 % de pulpa de café en la dieta (n=11). Se utilizó un diseño completamente al azar, para el caso de las variables productivas se consideró el peso inicial de los ovinos como covariable. La pulpa de café no afectó la ganancia diaria de peso, consumo alimenticio y conversión alimenticia, aunque el consumo de agua, ácido acético y butírico y AGVs totales se incrementaron ( $P<0.05$ ) al incluir 16 % de pulpa de café. La capacidad antioxidante no se modificó por la inclusión de pulpa de café, aunque si redujo la oxidación lipídica. En el tercer experimento 5 ovinos de cada tratamiento del experimento 2 fueron sacrificados. Se encontró que la inclusión de 16 % de pulpa de café en la dieta incrementó el rendimiento de canal y disminuyó la grasa del rumen e intestinos. La composición química, capacidad antioxidante y oxidación lipídica de la carne no se vio modificada por la inclusión de pulpa de café en la dieta. En el cuarto experimento, 30 ovejas cruzas de Dorset y Suffolk de

diferentes partos (1, 2 y  $\geq 4$  partos) fueron muestreadas en diferentes etapas fisiológicas: cuando estaban no gestantes, al primer, segundo, tercero y cuarto mes y al día 143 de gestación, así como en el día 5 y al mes de lactancia. Se midió la capacidad antioxidante, oxidación lipídica, glutatión peroxidasa y ácido ascórbico. La capacidad antioxidante tuvo dos caídas, en el segundo mes de gestación y en el día 5 de lactancia, en estos mismos tiempos se incrementó la actividad de la enzima glutatión peroxidasa. La oxidación lipídica disminuyó al incrementarse el número de partos. El ácido ascórbico disminuyó en la lactancia y gestación, con los valores más bajos en el tercer mes de gestación. En el quinto experimento 40 ovejas fueron distribuidas a dos tratamientos, T0: (n=21) suplementación con 450 g de alimento y T1: (n=19) suplementación con 450 g de alimento con 25 % de pulpa de café. Se suplementó 14 días antes de insertar el progestágeno y hasta 25 días después del empadre. Se muestreó a diferentes tiempos de la sincronización y del inicio de la gestación para determinar el estado oxidativo y la concentración de progesterona. La pulpa de café no afectó el porcentaje de presentación de estros, inicio de estros, prolificidad y concentración de progesterona, pero disminuyó la fertilidad. Previo a la inserción del progestágeno, las borregas del T1 tuvieron una mayor capacidad antioxidante. Se concluye que la pulpa de café puede ser utilizada ensilada o sin ensilar debido a que su capacidad antioxidante no se ve modificada, y utilizada al 16 % de la dieta sin afectar las características productivas y logrando incrementar el rendimiento en canal. La capacidad antioxidante presenta cambios durante la gestación y lactancia por lo que es necesaria la suplementación con antioxidantes; sin embargo, no es recomendable la suplementación con pulpa de café antes del empadre y el inicio de la gestación debido a que disminuye la fertilidad.

**Palabras clave:** *cafeína, capacidad antioxidante, ovejas, oxidación lipídica*

## **Agradecimientos**

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por el apoyo económico para la realización de mis estudios de doctorado.

A la línea de investigación, LPI-11 del COLPOS y al proyecto DGAPA/PAPIIT:IT222611-3 de la UNAM por el financiamiento a la presente investigación.

A la Dra. María Teresa Sánchez Esqueda por su confianza, apoyo y amistad durante la realización de mis estudios.

A la Dra. María Esther Ortega Cerrilla por la amistad y por ser parte fundamental en la redacción de la tesis.

Al Dr. José Luis Figueroa Velasco por su amistad y por formar parte del Consejo de Particular.

A los doctores Antonio Díaz Cruz y Raquel Guinsberg Perrusquia porque sus aportaciones y muy atinados consejos determinaron las pausas a seguir en la realización de la tesis, y porque en ellos encontré unos amigos que sé que estarán ahí cuando se necesite de un consejo.

Al Dr. Jorge Hernández Bautista por su larga amistad desde el inicio de mi formación y por ser un ejemplo de cariño al campo oaxaqueño.

A la Dra. María Magdalena Crosby Galván y M.C. Cuauhtémoc Nava Cuellar por su amistad y por su enseñanza en el trabajo de laboratorio.

Al M.V.Z. José Luis Cordero Mora por la amistad y por su apoyo en todo momento.

A todos mis amigos que encontré durante mi estancia en el COLPOS y que citarlos y agradecerles no tendría espacio en una hoja.

### **Dedicatoria**

A mi esposa Catalina Santos Salinas por su cariño, apoyo y paciencia en esta etapa de mi vida.

A mi hijo Nahir Salinas Santos porque desde su llegada cambió mi vida y porque ha hecho sentirme orgulloso.

A mi padres Teodulo Salinas Martínez y Esperanza Rios Mendoza porque nunca han dejado de apoyarme y alentarme a seguir adelante.

A mis hermanos Noemí y Efraín porque siempre han estado ahí cuando los he necesitado.

A mis abuelos Agustín†, Aurelio†, Lucila† y Cirila porque me inculcaron el respeto y el amor al campo.

A mi familia por ser parte de mi vida y por los muchos momentos que a diario compartimos.

## CONTENIDO

CAPITULO I. Introducción general.....	1
1.1 Revisión de literatura.....	4
1.1.1 Ovinocultura en México.....	4
1.1.2 Cafecultura en México.....	5
1.1.3 Subproductos de la Cafecultura en la alimentación animal.....	5
1.1.4 Radicales libres.....	7
1.1.5 Antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.....	8
1.1.6 Vitaminas con propiedades antioxidantes.....	8
1.1.6.1 Vitamina E.....	8
1.1.6.2 Vitamina A.....	9
1.1.6.3 Vitamina C.....	9
1.1.6.4 Compuestos fenólicos.....	10
1.1.7 Antioxidantes enzimáticos.....	11
1.1.8 Estado oxidativo en animales de granja.....	12
1.1.8.1 En la reproducción.....	12
1.1.8.2 Gestación y lactancia.....	13
1.1.8.3 Engordas animales.....	14
1.1.8.4 Características de la canal.....	14
1.2 Literatura citada.....	15
CAPITULO II. CAMBIOS EN COMPOSICIÓN, CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA DE CAFÉ DURANTE EL ENSILAJE.....	22
2.1 Resumen.....	22
2.2 Abstract.....	23
2.3 Introducción.....	23
2.4 Materiales y métodos.....	25
2.5 Resultados y discusión.....	27
2.6 Conclusiones.....	36
2.7 Literatura citada.....	36

CAPITULO 3. ESTADO OXIDATIVO Y PRODUCTIVIDAD DE OVINOS ALIMENTADOS CON PULPA DE CAFÉ.....	41
3.1 Resumen.....	41
3.2 Abstract.....	42
3.3 Introducción.....	42
3.4 Materiales y métodos.....	43
3.4.1 Ensilaje y análisis de la pulpa de café.....	43
3.4.2 Animales.....	44
3.4.3 Área del ojo de la costilla y espesor de grasa dorsal.....	45
3.4.4 Variables productivas.....	46
3.4.5 Digestibilidad <i>in vivo</i> .....	46
3.4.6 pH, AGV's y nitrógeno amoniacal en líquido ruminal.....	47
3.4.7 TBARS y FRAP.....	47
3.4.8 Análisis estadístico.....	48
3.5 Resultados.....	49
3.5.1 Ensilaje y análisis de la pulpa de café.....	49
3.5.2 Área del ojo de la costilla y espesor de grasa dorsal.....	49
3.5.3 Variables productivas.....	50
3.5.4 Digestibilidad <i>in vivo</i> .....	51
3.5.5 pH, nitrógeno amoniacal y AGV's en líquido ruminal.....	52
3.5.6 TBARS y FRAP.....	53
3.6 Discusión.....	55
3.6.1 Área del ojo de la costilla y espesor de grasa dorsal.....	55
3.6.2 Variables productivas.....	56
3.6.3 Digestibilidad <i>in vivo</i> .....	58
3.6.4 pH, nitrógeno amoniacal y AGV's en líquido ruminal.....	59
3.6.5 TBARS y FRAP.....	59
3.7 Conclusiones.....	61
3.8 Literatura citada.....	61
CAPITULO IV. CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL, CAMBIOS FÍSICO-QUÍMICOS E INDICADORES DE OXIDACIÓN DE LA CARNE DE OVINOS ALIMENTADOS CON PULPA DE CAFÉ.....	66
4.1 Resumen.....	66



4.2 Abstract.....	67
4.3 Introducción.....	67
4.4 Materiales y métodos.....	68
4.4.1 Ensilaje y análisis de la pulpa de café.....	68
4.4.2 Animales.....	70
4.4.3 Evaluación de la canal y composición química.....	70
4.4.4 Evaluación del color.....	71
4.4.5 Estado oxidativo de la carne.....	71
4.4.6 Análisis estadístico.....	72
4.5 Resultados.....	72
4.5.1 Evaluación de la canal y composición química.....	74
4.5.2 Evaluación del color.....	76
4.5.3 Estado oxidativo.....	77
4.6 Discusión.....	79
4.6.1 Evaluación de la canal y composición química.....	82
4.6.2 Evaluación del color.....	82
4.6.3 Estado oxidativo.....	83
4.7 Conclusiones.....	85
4.8 Literatura citada.....	85
<b>CAPITULO V. ESTADO OXIDATIVO EN OVEJAS DE DIFERENTES PARTOS A TRAVÉS DE LA GESTACIÓN Y LACTANCIA.....</b>	<b>89</b>
5.1 Resumen.....	89
5.2 Abstract.....	90
5.3 Introducción.....	90
5.4 Materiales y métodos.....	92
5.4.1 Animales.....	92
5.4.2 Muestras.....	93
5.4.3 Capacidad antioxidante.....	93
5.4.4 Lipoperoxidación.....	94
5.4.5 Glutatión peroxidasa.....	94
5.4.6 Ácido ascórbico.....	95
5.4.7 Análisis estadístico.....	95

5.5 Resultados.....	96
5.5.1 Capacidad antioxidante.....	96
5.5.2 Lipoperoxidación.....	97
5.5.3 Glutación peroxidasa.....	98
5.5.4 Ácido ascórbico.....	99
5.6 Discusión.....	100
5.6.1 Capacidad antioxidante.....	100
5.6.2 Lipoperoxidación.....	101
5.6.3 Glutación peroxidasa.....	103
5.6.4 Ácido ascórbico.....	103
5.7 Conclusiones.....	105
5.8 Literatura citada.....	105
<b>CAPITULO VI. ESTADO OXIDATIVO Y VARIABLES REPRODUCTIVAS EN OVEJAS SUPLEMENTADAS CON PULPA DE CAFÉ (<i>Coffea arabica</i>) DURANTE LA SINCRONIZACIÓN Y AL INICIO DE LA GESTACIÓN.....</b>	<b>109</b>
6.1 Resumen.....	109
6.2 Abstract.....	110
6.3 Introducción.....	111
6.4 Materiales y métodos.....	112
6.4.1 Sincronización de estros.....	114
6.4.2 Variables reproductivas.....	115
6.4.3 Muestras para estado oxidativo.....	116
6.4.4 Capacidad antioxidante total.....	116
6.4.5 Oxidación lipídica.....	116
6.4.6 Muestreo y análisis de progesterona.....	117
6.4.7 Análisis estadístico.....	117
6.5 Resultados.....	118
6.6 Discusión.....	122
6.7 Conclusiones.....	125
6.8 Literatura citada.....	126
<b>VII. CONCLUSION GENERAL.....</b>	<b>129</b>

## CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 2.1 pH, ácido láctico y concentración de ácidos grasos volátiles en pulpa de café ensilada por 60 días con 5 % de melaza.....	28
Cuadro 2.2 Composición de la pulpa de café antes y después de ensilar con 5 % de melaza (datos en base seca).....	31
Cuadro 2.3 Niveles de cafeína, compuestos antioxidantes y capacidad antioxidante de la pulpa de café antes y después de ensilar, expresados en base seca.....	33
Cuadro 3.1. Ingredientes y composición química en base seca de las dietas para engorda de ovinos.....	45
Cuadro 3.2. Composición química y antioxidantes en base seca de la pulpa de café ensilada con 5 % de melaza.....	49
Cuadro 3.3. Área del ojo de la costilla y espesor de grasa dorsal al inicio y al final de la engorda en ovinos cruzas de Blackbelly alimentados con diferente inclusión de pulpa de café.....	50
Cuadro 3.4. Ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y consumo de agua en ovinos Blackbelly en engorda alimentados con 0, 8 y 16 % de pulpa de café en la dieta.....	51
Cuadro 3.5. Digestibilidad de PC, FDA, FDN y MO en ovinos alimentados con 0, 8 y 16 % de pulpa de café.....	52
Cuadro 3.6. Nitrógeno amoniacal y ácidos grasos volátiles en líquido ruminal de ovinos alimentados con 0, 8 y 16 % de pulpa de café en la dieta.....	53
Cuadro 3.7. Capacidad antioxidante de las dietas suministradas a los ovinos en engorda..	54
Cuadro 3.8. Niveles de TBARS y FRAP en plasma en ovinos cruzas de Blackbelly alimentados con diferentes niveles de pulpa de café en la dieta.....	55
Cuadro 4.1. Ingredientes y composición química de las dietas para engorda de ovinos....	73
Cuadro 4.2. Composición química y de antioxidantes en base seca de la pulpa de café ensilada con 5% de melaza.....	73
Cuadro 4.3. Rendimientos de canal, grasa visceral y área del ojo de la costilla de ovinos Blackbelly alimentados con diferentes niveles de pulpa de café en la dieta.....	75
Cuadro 4.4. Composición química de la carne de ovinos Blackbelly medida en el <i>Longissimus dorsi</i> alimentados con 0, 8 y 16 % de pulpa de café en la dieta.....	75
Cuadro 5.1. Ingredientes de la dieta suministrada a ovejas durante la etapa de gestación y lactancia.....	93

Cuadro 5.2. Concentraciones de malondialdehído en ovejas de diferentes partos.....	97
Cuadro 6.1. Composición de las dietas proporcionadas a las ovejas durante la sincronización y posterior al empadre.....	114
Cuadro 6.2. Variables reproductivas en ovejas sincronizadas y suplementadas con 25% de pulpa de café en el concentrado.....	119
Cuadro 6.3. Capacidad antioxidante en ovejas durante la sincronización de estro con progestágeno y en las primeras semanas de gestación.....	120
Cuadro 6.4. Concentraciones de progesterona en ovejas suplementadas con pulpa de café.....	122

## CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 4.1. Cambios de luminosidad (L*), intensidad de rojo (a*) e intensidad de amarillo (b*) a través del tiempo de vida de anaquel en carne de ovinos alimentado con pulpa de café.....	77
Figura 4.2. Capacidad antioxidante a diferentes días de almacenamiento en carne de ovinos alimentados con dietas con diferentes concentraciones de pulpa de café.....	78
Figura 4.3. Oxidación a diferentes días de almacenamiento en carne de ovinos alimentados con dietas con diferentes concentraciones de pulpa de café.....	79
Figura 5.1. Capacidad antioxidante en plasma de ovejas de diferentes partos medida por la técnica FRAP cuando estaban no gestantes, al primer, segundo, tercer y cuarto mes y en el día 5 y primer mes de lactancia.....	97
Figura 5.2. Concentraciones de malondialdehido (MDA) en plasma de ovejas de diferentes partos medida por la técnica TBARS cuando estaban no gestantes, al primer, segundo, tercer y cuarto mes y en el día 5 y primer mes de lactancia.....	98
Figura 5.3. Glutación peroxidasa en plasma de ovejas de diferentes partos cuando estaban no gestantes, al primer, segundo, tercer y cuarto mes y en el día 5 y primer mes de lactancia.....	99
Figura 5.4. Ácido ascórbico en plasma de ovejas de diferentes partos a través de la lactancia y gestación.....	100
Figura 6.1. Protocolo de sincronización y muestreos para medir estado oxidativo y progesterona en ovejas testigo y con 25 % de pulpa de café en el concentrado.....	115
Figura 6.2. Lipoperoxidación en ovejas durante la sincronización con progestágeno y en las primeras semanas de gestación.....	121

## I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El grano de café es uno de los principales productos de exportación de México. Es el producto perenne con más superficie sembrada después de los pastos cultivados, con un total de 718,126 hectáreas plantadas. Además, es el que más unidades de producción representa con un total de 23.59 % de las unidades totales conformadas por cultivos perennes (INEGI, 2007). Esta actividad involucra alrededor de medio millón de productores. México se encuentra entre los 10 principales productores de café y el primero en producción orgánica basado en el autoempleo, en su mayoría indígenas de 25 etnias (SAGARPA, 2006). En el 2012 la producción de café cereza fue de 1,287,642 toneladas (SAGARPA, 2012). Del total de café cereza 40% corresponde a pulpa de café, la cual en ocasiones es utilizada para la elaboración de abono orgánico y en otras es desechada sin beneficio alguno, siendo una fuente de contaminación para afluentes de agua.

La inclusión de la pulpa de café en la alimentación animal ha sido evaluada en ganancias de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia en diferentes especies animales (Barrueta *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2000; Bautista *et al.*, 2005). A este subproducto se le han encontrado compuestos como los taninos y la cafeína (Ferreira *et al.*, 2001; Noriega *et al.*, 2009), los cuales son limitantes en las dietas. Algunos compuestos fenólicos se han encontrado también en la pulpa de café (Ramirez-Coronel *et al.*, 2004) los cuales han mostrado ser potentes antioxidantes (Sroka y Cisowski, 2003). El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas sustancias químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas de oxígeno (Ames *et al.*, 1993).



Actualmente las engordas animales se basan en la inclusión de granos para aumentar las ganancias de peso y acortar los tiempos de finalización. Sin embargo, se ha visto que dietas con granos incrementan el estrés oxidativo en los animales (Mercier *et al.*, 2004). Este estrés oxidativo disminuye los mecanismos de defensa a enfermedades y en animales en engorda se ha demostrado que la carne proveniente de animales alimentados con granos muestra un mayor grado de oxidación (Insani *et al.*, 2008), lo que provoca una menor vida de anaquel.

En vacas lecheras es donde más se han estudiado los estados críticos de estrés oxidativo y sus consecuencias. El periodo de transición está asociado con una rápida diferenciación del parénquima, intenso crecimiento de la glándula mamaria y el inicio de la síntesis de producción de leche, las cuales son acompañadas por una alta demanda de energía y un incremento en los requerimientos de oxígeno (Gitto *et al.*, 2002).

En cabras, se ha demostrado que existe un incremento de estrés oxidativo al utilizar progestágenos para la sincronización de celos. También se ha visto que la inyección de 200 mg de vitamina E (la cual es un potente antioxidante) al momento del retiro del progestágeno y a la segunda inseminación logran disminuir el estrés oxidativo, incrementando con esto el número de partos múltiples y la prolificidad (Sönmez *et al.*, 2009). Sin embargo, no existen antecedentes que indiquen si la inclusión permanente de antioxidantes en la dieta antes de la sincronización y hasta la implantación, pudiera lograr contrarrestar el aumento en el estrés oxidativo de los animales durante el tiempo que permanecen con el progestágeno y si pudiera existir una mejora en las variables reproductivas.

En ovejas, pocas evidencias científicas existen acerca del estado oxidativo y la suplementación de antioxidantes naturales como la pulpa de café, en diferentes etapas fisiológicas de los

animales como en la engorda, evaluación de la canal, gestación, lactancia y durante la sincronización de estros, por lo que los objetivos de estudio fueron:

- Determinar los antioxidantes y composición química de la pulpa de café ensilada y sin ensilar.
- Evaluar las variables productivas, de fermentación ruminal y estado oxidativo en ovinos alimentados con pulpa de café en la dieta durante la engorda; así como su efecto en las características químicas y de la canal, y en la vida de anaquel de la carne.
- Determinar el estado oxidativo de ovejas durante la sincronización de estros y el inicio de la gestación y valorar si la adición de pulpa de café en la dieta incrementa la capacidad antioxidante y mejora las variables reproductivas.
- Conocer el estado oxidativo durante la gestación y lactancia en ovejas de distinto número de partos.

## **1.1 Revisión de literatura**

### **1.1.1 Ovinocultura en México**

Debido a la diversidad de climas, situación económica de los productores y tenencia de la tierra, la explotación de ovinos en México es variable; donde razas de pelo son criadas en climas tropicales y razas de lana en climas templados. El tipo de tenencia de la tierra en México es ejidal, comunal y propiedad privada, por lo que existen tres tipos de explotación: el de subsistencia donde predomina la mano de obra familiar, la producción es para autoconsumo y se dan ventas ocasionales; el sistema de explotación comercial, donde se produce ovinos para abasto y pie de cría y se usa mano de obra externa; y el de transición que es considerado como intermediario entre las unidades de producción de subsistencia y el comercial (Pérez *et al.*, 2011).

El inventario ovino en México se ha incrementado considerablemente en la última década, pasando de 6,819,771 ovinos en 2003 a 8,405,902 en el 2012. El estado de México es el principal productor con 1,326,982, seguido por Hidalgo con 1,162,556, Veracruz con 664,258 y Oaxaca con 527,369 ovinos (SIAP, 2014). De 1999 a 2009 la producción de carne pasó de 31,000 a 59,000 toneladas, parte de esta mayor producción se ha debido a la tecnificación en la explotación de pie de cría y engordas (SIAP, 2014). A pesar de eso existe un incremento de 5.9% en la demanda anual, por lo que más del 50% de la demanda se cubre con importaciones (SAGARPA, 2014). La producción de carne de ovinos en México no logra abastecer la demanda nacional, por lo que en el 2008 se importaron alrededor de 35,000 toneladas a precios más bajos que los del mercado nacional (Martínez *et al.*, 2010).

### **1.1.2 Cafecultura en México**

La producción de café en México se concentra en cuatro estados que son: Chiapas, Veracruz, Puebla y Oaxaca. Ecológicamente la cafecultura es de gran importancia ya que la mayor parte de las plantaciones del país se cultivan bajo sombra, capturando carbono y agua, así como ayudando a la conservación del suelo y la biodiversidad. Socialmente, involucra alrededor de medio millón de productores (SAGARPA, 2006) y económicamente tiene un gran impacto en el sector agrícola, ya que en el 2013 se exportaron 4.3 millones de sacos de café de 100 libras (SAGARPA, 2014). Dos de los grandes problemas de la cafecultura han sido la fluctuación de los precios del grano y la variabilidad del clima, lo que repercute en los ingresos y genera incertidumbre para los productores (Tucker *et al.*, 2010) ocasionando con esto migración (Nava-Tablada, 2012) por lo que es necesario ofrecer alternativas que incrementen los ingresos de los cafecultores.

### **1.1.3 Subproductos de la cafecultura en la alimentación animal**

Una alternativa para incrementar los ingresos de los productores de café es la utilización de los subproductos del procesado de café en la alimentación de animales, lo que daría un valor extra a los ingresos de los productores. En el despulpado de café se generan varios subproductos como la pulpa de café, la cáscara de la cereza, cáscara del café pergamino y cáscara del grano. Todas ellas contienen grandes cantidades de compuestos antioxidantes, principalmente ácido clorogénico (Murthy y Naidu, 2012). La pulpa de café contiene cantidades considerables de minerales: 3.1 % de potasio, 0.46 % de calcio, 0.14 % de magnesio, 0.013 % de fósforo (Figueroa y Mendoza, 2010), por lo cual ha sido utilizada en la alimentación animal y para la elaboración de abono orgánico. Se han encontrado gran cantidad de compuestos fenólicos

(Arellano-González *et al.*, 2011). Estos ácidos fenólicos le confieren el sabor y el aroma, el cual va a depender de factores genéticos, el grado de madurez y prácticas de manejo (Fara y Marino, 2006), por lo que la pulpa de café es un subproducto con capacidad antioxidante (Arellano-González *et al.*, 2011) que puede ser incluido en las dietas de animales (Noriega *et al.* 2009). Además de los compuestos antioxidantes la pulpa de café contiene 0.87 % de cafeína (Ferreira *et al.*, 2001), la cual ocasiona algunos efectos adversos por ser diurética (Stookey, 1999) e incrementa la excreción de nitrógeno a porcentajes elevados de inclusión. Diferentes métodos se han utilizado para reducir la cafeína, fenoles y taninos por considerarlos indeseables, entre ellos está el ensilado con melaza, descomposición aeróbica e inoculación bacteriana (Ulloa *et al.*, 2003). Sin embargo, su uso incrementa los costos de producción aun cuando se ha encontrado que estos compuestos pudieran ejercer un efecto benéfico en el animal.

En dietas para novillos con 60:40 de forraje-concentrado con inclusión de 30 % de cáscara de café en el concentrado no se afecta la ganancia de peso, y se mejora considerablemente la relación beneficio-costo (Ferreira *et al.*, 1997). En ovinos, la cascara de café en concentraciones del 10 % no afecta el consumo y la digestibilidad total de nutrientes (Lima de Souza *et al.*, 2004). En vacas lecheras la producción de leche, el contenido de grasa, proteína y sólidos totales no se ven afectados por la inclusión de 10.5 % de cascara de café (Lima de Souza *et al.*, 2005). En cerdos en crecimiento la inclusión de hasta 20 % de pulpa de café ensilada no afecta la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia, pero sí el consumo de alimento, siendo la inclusión máxima en la cual no se afecta esta variable del 15 %; mientras que en la fase de engorda se puede incluir hasta el 20 % sin afectar la ganancia de peso, consumo de alimento y eficiencia alimenticia (Barrueta *et al.*, 2000). En aves se ha reportado que la inclusión de pulpa de café por arriba del 5% ocasiona efectos adversos en los valores de digestibilidad verdadera de la materia seca, nitrógeno y energía metabolizable verdadera (Acosta *et al.*, 1997); mientras que en

alevines se ha comprobado que la inclusión de 18 % de pulpa de café ensilada o sin ensilar no afecta los parámetros productivos y reduce los costos de producción (Bautista *et al.*, 2005). Una de las limitantes en su inclusión es que incrementa el nitrógeno en heces y orina, por lo que el porcentaje de nitrógeno retenido es menor (Monteiro *et al.*, 2007). Sin embargo, tiene efectos benéficos ya que se ha encontrado que la cafeína disminuye la grasa e incrementa la cantidad de proteína en la carne (Poornahavandi y Zamiri 2008). Además se ha demostrado que los ácidos fenólicos se caracterizan por atrapar radicales libres y actuar como antioxidantes (Ohnishi *et al.*, 1994; Gülcin, 2006; Kim *et al.*, 2008).

#### **1.1.4 Radicales libres**

Un radical libre es un compuesto que posee uno o más electrones desapareados, por lo que interactúa con otras moléculas para permanecer estable en su configuración electrónica; cuando las moléculas ceden electrones se denomina oxidación y cuando los acepta reducción. Sin embargo, también existen otros compuestos oxidantes como el peróxido de hidrógeno, ácido hipocloroso e hidroperóxidos que no son radicales libres (Chihuailaf *et al.*, 2002), por lo que a todos estos radicales que se producen bajo condiciones basales en el metabolismo aeróbico se les denomina especies reactivas al oxígeno (ROS).

Estas sustancias son producidas durante los pasos intermediarios de reducción del oxígeno, entre ellos se encuentran el anión radical superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo (Guérin *et al.*, 2001). El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de ROS (Ames *et al.*, 1993), por lo que podemos decir que el oxígeno es un



elemento necesario, aunque también es considerado como un elemento oxidante. El organismo tiene diversos mecanismos para contrarrestar la producción de ROS, entre ellos se pueden mencionar a los antioxidantes enzimáticos y los no enzimáticos.

### **1.1.5 Antioxidantes no enzimáticos y enzimáticos**

Los antioxidantes son moléculas capaces de prevenir o inhibir la oxidación de sustratos, estos se clasifican en dos grandes grupos: no enzimáticos, los cuales son adquiridos a través de la dieta o sintetizados en el organismo y los enzimáticos, que son moléculas con actividad catalítica producidos de manera endógena por el animal.

### **1.1.6 Vitaminas con propiedades antioxidantes**

Entre los antioxidantes no enzimáticos, los más utilizados y evaluados en la producción animal son las vitamina A, E y C.

#### **1.1.6.1 Vitamina E**

La vitamina E o  $\alpha$ -tocoferol, ha sido la vitamina y el antioxidante más estudiado en la producción animal. Es una vitamina liposoluble, la cual reacciona con los lípidos de las membranas. Suplementada en animales antes del parto ha demostrado reducir la concentración de TBARS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico) en células sanguíneas y con ello ayuda a disminuir la incidencia de retención de membranas fetales ([Brzezinska-Slebodzinsk et al., 1994](#)). En ovejas al inyectar intramuscularmente 15 días antes de inseminar y cada 30 días durante la gestación 8 mg/kg de peso vivo de  $\beta$  caroteno, 200,000 UI de vitamina A, o una combinación de 4 mg/kg de  $\beta$  caroteno + 10,000 UI de vitamina E, se encontró un incremento en la glutatión peroxidasa en eritrocitos de corderos después del nacimiento, lo que demuestra que

esto proporciona una transferencia de sustancias protectoras de las ovejas a los corderos para que puedan estimular el sistema antioxidante de defensa y también la supervivencia y las altas tasas de crecimiento de los corderos (Kamiloglu *et al.*, 2006). Además, los corderos nacidos de las ovejas alimentadas con vitamina E durante la gestación, son más pesados al nacer, existiendo transferencia placentaria de vitamina E a los tejidos de los corderos (Capper *et al.*, 2005). Por lo que la concentración de la vitamina E del cordero recién nacido y lactante puede ser manipulada al adicionar vitamina E en la oveja durante el embarazo y la lactancia (Capper *et al.*, 2005).

#### **1.1.6.2 Vitamina A**

El  $\beta$ -caroteno el cual es un precursor de la vitamina A y en conjunto con el tocoferol mejora la calidad de embriones en vacas superovuladas (Sales *et al.*, 2008). Junto con las vitaminas C y E, se clasifican como antioxidantes interruptores, porque actúan interrumpiendo la reacción en cadena de formación de radicales libres, atrapándolos y reduciéndolos. En vacas superovuladas la administración de dos inyecciones de  $\beta$ -caroteno junto con tocoferol al inicio y en el día 5 de la sincronización de estros mejora la calidad de embriones (Sales *et al.*, 2008).

#### **1.1.6.3 Vitamina C**

El ácido ascórbico o comúnmente denominado vitamina C se obtiene a partir de la D-glucosa, L-xilosa o L-sorbosa (Melo y Cuamatzi, 2006), es sintetizado en el hígado de la mayoría de los animales entre ellos los rumiantes. Es un compuesto eficaz en atrapar radicales libres como el peróxido de hidrógeno (Yen *et al.*, 2002), además de su función directa como antioxidante, también indirectamente lo hace a través de la regeneración vía no enzimática de la vitamina E (Pita, 1997). La suplementación vía oral de vitamina C incrementa la concentración de ácido ascórbico en plasma de vacas lecheras, por lo que la digestión en rumiantes no inhibe sus

propiedades (Hidioglou, 1999). En mujeres con fase lútea defectuosa se ha visto que esta vitamina incrementa la concentración de progesterona, mejorando con ello la tasa de gestación (Henmi *et al.*, 2003).

#### 1.1.6.4 Compuestos fenólicos

Son compuestos antioxidantes producto del metabolismo secundario de plantas, los cuales son encontrados en una gran variedad de frutas y vegetales (Soong y Barlow, 2006; Li *et al.*, 2008). Son clasificados como antioxidantes no enzimáticos, hidrofóbicos y se ubican en el citosol, matriz mitocondrial y nuclear así como en fluidos extracelulares (Chihuailaf *et al.*, 2002). La eficacia de los polifenoles como antioxidante es diversa y depende de varios factores como el número de grupos hidroxilo unidos al anillo aromático, el sitio de unión y la posición mutua de hidroxilos en el anillo aromático. Por ejemplo, el 3,4,5-trihidroxibenzoico (ácido gálico) y el 1,2,3-trihidroxibenceno (ácido pirogalol), los cuales tienen tres grupos hidroxilos unidos al anillo aromático en la posición ortho tienen una mayor actividad antioxidante que el 3,4-dihidroxicinámico (ácido cafeico), el cual tiene 2 grupos hidroxilos unidos a un anillo aromático en la posición ortho, mientras que el 3-hidroxibenzoico, el 4-hidroxifenilacético y el 2-hidroxibenzoico (ácido salicílico), tienen un solo grupo hidroxilo y presentan una menor actividad antioxidante (Sroka y Cisowski, 2003).

Los ácidos hidroxinámicos son compuestos fenólicos encontrados en una gran cantidad de plantas. En el café el más abundante es el ácido clorogénico y el ácido cafeico los cuales son absorbidos en el intestino delgado en humanos (Olthof *et al.*, 2001). Algunas plantas con compuestos fenólicos como Verbenaceae (*Lippia spp.*) ayudan a reducir la lipoperoxidación y ROS y a incrementar la vitamina A y E en ovejas posparto. Debido a la fermentación ruminal se

podiera pensar que las propiedades antioxidantes de plantas con polifenoles pudieran perder sus propiedades; sin embargo, [Gladine et al. \(2007\)](#) al evaluar las propiedades antioxidantes de 4 plantas ricas en polifenoles, encontraron que el proceso digestivo en rumiantes no inhibe las propiedades antioxidantes de dichas plantas, observando que 15 horas después del suministro de las plantas la capacidad antioxidante en plasma sanguíneo empieza a elevarse.

### **1.1.7 Antioxidantes enzimáticos**

Los antioxidantes enzimáticos se encuentran dentro del organismo animal y su función es proteger y prevenir a las células de ROS producidos durante el metabolismo. Los tres principales antioxidantes enzimáticos son la superóxido dismutasa que cataliza el anión superóxido a peróxido de hidrógeno; la catalasa que es una enzima tetramérica que convierte el peróxido de hidrógeno en agua, la cual se localiza en los peroxisomas, y la glutatión peroxidasa que ayuda a la eliminación del peróxido de hidrógeno, que a diferencia de la catalasa que usa el peróxido de hidrógeno como dador de electrones utiliza el glutatión reducido; se encuentra en el citosol y en las mitocondrias ([Montero, 1996](#)).

[Al-Gubory \(2004\)](#) al estudiar la actividad de superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX), glutatión reductasa (GSR) y glutatión transferasa en cuerpos lúteos de borregas obtenidos en los días 15, 40, 60, 80 y 128 de preñez en borregas, encontraron que SOD1, GPX y GSR se incrementaron del día 15 a 40 y después de esto permanecieron sin cambios. Estos cambios posiblemente ayuden a contrarrestar el efecto de ROS durante la gestación, ya que se ha visto que ROS son producidos durante la reacción enzimática principalmente por la familia citocromo P-450 y por el sistema respiratorio de la mitocondria, y son considerados como subproductos de síntesis de esteroides en el cuerpo lúteo. En células lúteas de ratas el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es un potente oxidante que ha demostrado inhibir la esteroidogénesis por bloqueo de LH y transporte

de colesterol dentro de la mitocondria. La GSR, SOD varían acorde al tamaño del folículo y estado del ciclo estral, por lo que se sugiere un posible papel de estos antioxidantes enzimáticos en el desarrollo folicular durante el ciclo estral (El-Shahat y Kandil, 2012).

Se ha encontrado correlación de hasta el 97 % para la actividad enzimática de la GPX y la concentración de selenio en plasma (Ceballos *et al.*, 1999). La actividad GPX, SOD y catalasa disminuye en tejidos glandulares del endometrio de borregas ovariectomizadas tratadas con estrógenos (Al-Gubory *et al.*, 2008). Erisir (2009) Encontró que la concentración de glutatión, glutatión peroxidasa y catalasa varían con los meses de gestación, lo cual se puede deber a los diferentes cambios que se presentan durante la preñez y a los diferentes mecanismos enzimáticos de defensa por parte del organismo de las ovejas. Se ha visto que la glutatión peroxidasa es mayor en carne de corderos pastoreados en praderas ricas en leguminosas (Petron *et al.*, 2007).

### **1.1.8 Estado oxidativo en animales de granja**

#### **1.1.8.1 En la reproducción**

Uno de los factores que afecta el estado oxidativo en la reproducción es la condición corporal, ya que se ha visto que vacas con alta condición corporal al parto son más sensibles al estrés oxidativo (Bernabucci *et al.*, 2005). En cabras se ha demostrado que existe un incremento de estrés oxidativo al utilizar progestágenos para la sincronización de celos, también se ha reportado que la inyección de 200 mg de vitamina E al momento del retiro del progestágeno y a la segunda inseminación logran disminuir el estrés oxidativo e incrementar el número de partos múltiples y la prolificidad (Sönmez *et al.*, 2009). Los productos de oxidación, los cuales son marcadores de la oxidación de proteínas, son mayores en plasma sanguíneo de borregas que tienen mortalidades embrionarias (Celi *et al.*, 2012). El estrés oxidativo está relacionado con desórdenes como retención placentaria (Kankofer, 2002), esto ocasiona que durante éste

desorden exista alta demanda de antioxidantes y la capacidad antioxidante disminuya (Kankofer *et al.*, 2010), por lo que una dieta sin los antioxidantes necesarios puede incrementar el estrés oxidativo y la retención de membranas fetales en vacas lecheras (Brzezinska-Slebodzinsk, 1994). A pesar de los problemas fisiológicos que ocasiona la producción de ROS, también se ha demostrado que estos son esenciales para que se lleve a cabo la ovulación, por ejemplo, Shkolnik *et al.* (2011) en ratones demostraron que los antioxidantes como el hidroxibutilanisol inhibe la expansión del *cumulus*, el cual es indispensable para que se libere el ovocito, por lo que también encontraron que el número de ovocitos ovulados fue menor.

#### **1.1.8.2 Gestación y lactancia**

Al medir los cambios enzimáticos en placentomas de ovejas durante los primeros 80 días de gestación se ha encontrado que la glutatión peroxidasa aumenta al incrementarse el tiempo de gestación (Garrel *et al.*, 2010).

La suplementación con grasas en ganado lechero se utiliza para suplir las necesidades energéticas; sin embargo, cuando se suplementa con grasa oxidada se tiene reducción en el consumo de alimento y disminución de la capacidad antioxidante, para contrarrestar, esto la adición de antioxidantes incrementa el consumo de materia seca y la grasa de la leche, así como incrementa la capacidad antioxidante (Vázquez-Añon *et al.*, 2008). El incremento en la demanda de energía durante el parto está acompañado por un incremento en la producción de especies reactivas al oxígeno y si el animal no tiene un mecanismo enzimático eficiente o una suplementación con antioxidantes puede desencadenar un estado de estrés oxidativo. Turk *et al.* (2013) demostraron que los cambios en la movilización de lípidos y el estrés oxidativo durante el periodo de transición en vacas lecheras es un proceso de adaptación al déficit de energía. Durante la lactancia en borregas se incrementan los ROS (Piccion *et al.*, 2012).



### 1.1.8.3 Engordas animales

Existen pocos estudios acerca de la influencia del tipo de engorda de los animales y la relación entre el estado oxidativo y las variables productivas. Sin embargo, se ha determinado a través del tiempo de almacenamiento, que la carne de corderos engordados con concentrado tienen una mayor oxidación lipídica que la carne de corderos alimentados con pasturas (Sante'-Lhoutellier *et al.*, 2008). En carne de corderos Luciano *et al.* (2013) demostraron que al incrementarse el tiempo de engorda con concentrados, la oxidación de la carne es mayor. Luciano *et al.* (2009b) al engordar ovinos con concentrado y con *Vicia sativa* fresca, encontraron que la oxidación lipídica en carne incrementa a través del tiempo; sin embargo, la alimentación con forraje fresco retardó la oxidación lipídica.

### 1.1.8.4 Características de la canal

Las características físicas y químicas así como la vida de anaquel de la carne son de vital importancia, ya que determinan su aceptación por el consumidor. Para esto se han empleado diferentes estrategias, como la suplementación con antioxidantes como la vitamina E, la cual retarda la oxidación de la carne (Macit *et al.*, 2003), además de algunos forrajes como la alfalfa (Ripoll *et al.*, 2013) y taninos (Luciano *et al.*, 2011). En cuanto a los taninos que son un tipo de polifenoles, se ha encontrado que su suplementación incrementa la concentración de polifenoles en músculo y con ello proporciona una mayor capacidad antioxidante (Luciano *et al.*, 2011), además de incrementar la estabilidad de la coloración de la carne durante la refrigeración (Luciano *et al.*, 2009b).

Las dietas con ácidos grasos poliinsaturados incrementan la oxidación en la carne y reducen la vida de anaquel; sin embargo, se ha demostrado que aceites esenciales de orégano y romero, los

cuales tienen compuestos antioxidantes, reducen la oxidación e incrementan la vida de anaquel, estos aceites tienen un mayor efecto cuando se combinan. La vitamina E también ha retardado la oxidación de carne enriquecida con ácidos grasos omega-3, los cuales tienen gran aceptación por el consumidor (Muñío *et al.*, 2012). Un indicador físico relacionado con el grado de oxidación es el color, el cual es el principal atributo para su aceptación por el consumidor. Estos cambios en la coloración se deben a la exposición prolongada de la carne al oxígeno y la conversión de mioglobina a metamioglobina, lo que le da a la carne un color marrón-pardo, por lo que la metamioglobina incrementa con el tiempo de almacenamiento de la carne (Petron *et al.*, 2007). Una forma de retardar el deterioro de la carne es manteniendo la mioglobina o reduciendo la metamioglobina; a este respecto Luciano *et al.* (2009b) reportan que dietas a base de *Vicia sativa* reducen la concentración de metamioglobina.

## 1.2 Literatura citada

- Acosta, I. R., Márquez-Araque, A., Huerfano, T., Chachón, I. 1997. Evaluación de pulpa de café en aves: digestibilidad y energía metabolizable. Arch. Latinoam Prod Anim 5:311-312.
- Al-Gubory, K. A., Bolifraud, P., Germain, G., Nicole, A., Ceballos, I. 2004. Antioxidants enzymatic defense system in sheep corpus luteum throughout pregnancy. Reproduction, 128:767-774.
- Al-Gubory, K. H., Bolifraud P., Garrel, C. 2008. Regulation of key antioxidant enzymatic systems in the sheep endometrium by ovarian steroids. Endocrinology, 149 (9):4428-4434.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K., Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. Proc Natl Acad Sci USA, 90:7915-22.
- Arellano-González, M. A., Ramírez-Coronel, M. A., Torres-Mancera, M. T., Pérez-Morales, G. G., Saucedo-Castañeda, G. 2011. Antioxidant activity of fermented and nonfermented coffee (*Coffea arabica*) pulp extracts. Food Technol. Biotechnol, 49 (3):374-378.

- Barrueta, D. E., Bautista, E. O., Acevedo, L. 2000. Pulpa de café ensilada en dietas para cerdos en crecimiento y engorde. *Rev. Fac. Cs. Vets*, 41 (4):85-90.
- Bautista, E. O., Pernia, J., Barrueta, D., Useche, M. 2005. Pulpa ecológica de café ensilada en la alimentación de alevines del híbrido Cachamay (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomus*). *Revista Científica Universidad de Zulia*, 15 (001):33-40.
- Bernabucci, U., Ronch, B. I., Nardone, A. 2002. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85 (9):2173-2179.
- Brzezinska-Slebodzinsk, E., Mille, J. K., Quigley, J. D., Moore, J. R., 1994. Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin E and selenium. *Journal Dairy Science*, 77:3087-3095.
- Capper J. L., Wilkinson, R. G., Kasapidou, E., Pattinson, S. E., Mackenzie A. M., Sinclair, L. A. 2005. The effect of dietary vitamin E and fatty acid supplementation of pregnant and lactating ewes on placental and mammary transfer of vitamin E to the lamb. *British Journal of Nutrition*, 93:549–557.
- Ceballos, A., Wittwer, F. G., Contreras, P. A., Quiroz, E., Böhmwald, H. L. 1999. Blood activity of glutathione peroxidase and its correlation with blood selenium concentration in grazing dairy cattle. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 34 (12):2331-2338.
- Celi, P., Merlo, M., Barbato, O., Gabai, G. 2012. Relationship between oxidative stress and the success of artificial insemination in dairy cows in a pasture-based system. *The Veterinary Journal*, 193:498–502.
- Chihuailaf, R. H., Contreras, P. A., Wittwer, F. G. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. *Veterinaria México*, 33 (3):265-281.
- El-Shahat, K. H., Kandi, M. I. 2012. Antioxidant capacity of follicular fluid in relation to follicular size and stage of estrous cycle in buffaloes. *Theriogenology*, 77:1513–1518.
- Erisir M., Benzer, F., Kandemir, F. M. 2009. Changes in the rate of lipid peroxidation in plasma and selected blood antioxidants before and during pregnancy in ewes. *Acta Veterinaria Brno*, 78:237–242.
- Farah, A., Marino, D. C. 2006. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal Plant Physiology*, 8 (1):23-36.
- Ferreira, B. A., De Andrade, I. F., Tiesenhausen, I. Von., Ferreira, J. J., De Souza, S. R., Hermeto, B. C. F., Amaral, R., Aguiar, P. P. C. 1997. Aproveitamento da casca de café na alimentação de novilhos confinados resultados do primeiro ano. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 26:1208-1214.

- Ferreira I., Olalquiaga, J., Teixeira, J., Pacheco, C. 2000. Desempenho de cordeiros Texel x Bergamácia, Texel x Santa Inês e Santa Inês Puros, terminados em confinamento, alimentados com casca de café como parte da dieta. *Rev. bras. zootec.*, 29 (2):564-572.
- Ferreira B. A., Aguilar, A. P., Pérez, O. J., Dos Santos, V. B., Maciel, C. R. 2001. Factores antinutricionais da casca e da polpa desidratada de café (*Coffea arabica L.*), armazenadas em diferentes períodos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30 (4):1325-1331.
- Figuroa, H. G. G., Mendoza, A. J. 2010. Cuantificación de minerales K, Ca, Mg y P en pulpa y pergamino de café (*Coffea arabica L. var. Typica*). *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1 (2):221-230.
- Garrel, C., Fowler, P. A., Al-Gubory, K. H. 2010. Developmental changes in antioxidant enzymatic defenses against oxidative stress in sheep placentomas. *Journal of Endocrinology*, 205:107–116.
- Gladine, C. E. Rock., Morand, C., Bauchart, D., Durand, D. 2007. Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition*, 98:691–701.
- Guérin, P., Mouatassim, S. E. I., Ménezo, Y. 2001. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Human Reproduction Update*, 7 (2):175-189.
- Gülcin, I. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). 2006. *Toxicology*, 217:213-220.
- Gitto, E., Reiter, R. J., Karbownik, M., Tan, D. X., Gitto, P., Barberi, S., Barberi, I. 2002. Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period. *Biol. Neonate*, 81:146-157.
- Hemi, H., Endo T., Kitajima, Y., Manase, K., Hata, H., Kudo, R. 2003. Effects of ascorbic acid supplementation on serum progesterone levels in patients with a luteal phase defect. *Fertility and sterility* 80 (2):459-461.
- Hidiroglou, M. 1999. Technical note: forms and route of vitamin C supplementation for cows. *Journal Dairy Science*, 82:1831-1833.
- INEGI 2007. Censo Agropecuario 2007. Estados Unidos Mexicanos. Disponible en [Inegi.org.mx](http://Inegi.org.mx).
- Insani E. M., Eyherabide, A., Grigoni, G., Sancho, A. M., Pensel, N. A., Descalzo, A. M. 2008. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79 (3):444-452.
- Kankofer, M., 2002. Placenta release/retention in cows and its relation to peroxidative damage of macromolecules. *Reprod. Domest. Anim.* 37:27–30.

- Kankofer, M., Albera, E., Feldman, M., Gundling, N., Hoedemaker, M. 2010. Comparison of antioxidative/oxidative profiles in blood plasma of cows with and without retained fetal placental membranes. *Theriogenology*, 74:1385–1395.
- Kamiloğlu, N. N., Beytut E., Güven, A., Altinsa, Ç. 2006. Changes in the erythrocyte antioxidant system of offspring of dams treated with Vitamin A and  $\beta$ -carotene during gestation. *Small Ruminant Research*, 65:142–148.
- Kim, J. H., Kang, N. J., Lee, B. K., Lee, K. W., Lee, H. J. 2008. Gallic acid, a metabolite of the antioxidant propyl gallate, inhibits gap junctional intercellular communication via phosphorylation of connexin 43 and extracellular-signal-regulated kinase1/2 in rat liver epithelial cells. *Mutation Research*, 638:175–183.
- Li, H. B., Wong, C. C., Cheng, K. W., Chen, F. 2008. Antioxidant properties *in vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology*, 41:385-390.
- Lima de Souza, A., García, R., Valadares, F. S. C., Cipriano, R. F., De Souza, C. J. M., Da Silva C. L., Gobbi, K. F. 2004. Casca de café em dietas de vacas em lactação: consumo, digestibilidade e produção de leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34:2496-2504.
- Luciano, G., Monahan, F. J., Vasta, V., Biondi, L., Lanza, M., Priolo, A. 2009a. Dietary tannins improve lamb meat color stability. *Meat Science*, 81:120–125.
- Luciano, G., Monahan F. J., Vasta, V., Pennisi, P., Bella, M., Priolo, A. 2009b. Lipid and colour stability of meat from lambs fed fresh herbage or concentrate. *Meat Science*, 82:193–199.
- Luciano, G., Vasta, V., Monahan, F. J., López-Andrés, P., Biondi, L., Lanza, M., Priolo A. 2011. Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed a tannin-containing diet. *Food Chemistry*, 124:1036–1042.
- Luciano, G., Biondi L., Scerra, M., Serra, A., Mele, M., Lanza, M., Priolo, A. 2013. The effect of the change from a herbage- to a concentrate-based diet on the oxidative stability of raw and cooked lamb meat. *Meat Science*, 95:212-218.
- Macit, M., Aksakal, V., Emsen, E., Aksu, M. I., Karaoglu, M., Esenbuga, N. 2003. Effects of vitamin e supplementation on performance and meat quality traits of morkaraman male lambs. *Meat Science*, 63:51-55.
- Martínez, G. S., Aguirre O. J., Jaramillo, L. E., Macías, C. H., Carrillo, D. F., Herrera, G. M. T. y Pérez, E. E.. 2010. Alternativas para la producción de carne ovina en Nayarit, México. *Revista Fuente 1 (2):12-16*.
- Melo, R. V., Cuamatzi, T. O. 2006. *Bioquímica de los procesos metabólicos*. Editorial Reverte, UAM Xochimilco, México. Pp 335-336.

- Mercier Y., Gatellier, P., M. Renerre. 2004. Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Science*, 66 (2):467-473.
- Monteiro A. T., Campos M. J., Valadares, S. C., Ferreira D. V., Soares O. A., Dos santos P. D. 2007. Balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras alimentadas com casca de café em substituição à silagem de milho. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36 (5):1691-1698.
- Montero, M. 2006. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Revisión. *Anales de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 57 (4).
- Muñoz, I. E. Apeleo, C. Pérez-Santa Escolástica, A. Rivas-Cañedo, O. Pérez, M. T. Díaz, J. De la Fuente, C. Pérez, S. Lauzurica y V. Cañeque. Efecto de la suplementación con antioxidantes en la dieta de corderos sobre la calidad de su carne enriquecida en ácidos grasos omega-3. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 6 (1):40-44.
- Murthy, P. S., Naidu, M. M. 2012. Recovery of phenolic antioxidants and functional compounds from coffee industry by-products. *Food Bioprocess Technology*, 5:897-903.
- Nava-Tablada, M. E. 2012. Migración internacional y cafecultura en Veracruz, México. *Migraciones Internacionales*, 6 (3):139-171.
- Noriega, S. A., Silva, A. R., García, S. M. 2009. Composición química de la pulpa de café a diferentes tiempos de ensilaje para su uso potencial en la alimentación animal. *Zootecnia Tropical*, 27 (2):135-141.
- Olthof, M. R., Hollman, P. C. H., Katan, M. B. 2001. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of nutrition*, 131 (1):66-71.
- Ohnishi, M., Morishita, H., Wahashi, H. I., Shizuo, T., Shirataki, Y., Kimura, M. 1994. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and haemolysis. *Phytochemistry*, 36:579-583.
- Pérez, H. P., Vilaboa, A. J., Chalate, M. H., Candelaria, M. C., Rivera, R. P., López, O. S. 2011. Análisis descriptivos de los sistemas de producción con ovinos en el estado de Veracruz, México. *Revista Científica FCV-LUZ*, 21 (4):327-334.
- Petron, M. J., Raes, K., Claeys, E., Lourenço M., Fremaut, D. y De Smet, S. 2007. Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. *Meat Science* 75:737-745.
- Piccione G., Borruso, M., Fazio, F., Grasso, F., Caola, G. 2012. Oxidative Stress Evaluation During Milking Period in the Ewes. *Journal of Applied Animal Research*, 29:109-112.

- Poornahavandi, H. R. y Zamiri, M. J. 2008. Effects of ephedrine and its combination with caffeine on body composition and blood attributes of fat-tailed Mehraban lambs. *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, 9 (1):51-58.
- Ramírez-Coronel, M. A., Marnet, N., Kumar-Kolli, V. S., Roussos, S., Guyot, S., Augur, C. Characterization and estimation of proanthocyanidins and other phenolics in coffee pulp (*Coffea arabica*) by thiolysis-high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:1344–1349.
- Ripoll, G., González-Calvo, L., Calvo, J. H. y Joy, M. 2013. Effects of finishing period length with vitamin E supplementation and alfalfa grazing on carcass color and the evolution of meat color and the lipid oxidation of light lambs. *Meat Science*, 93:906–913.
- Pita, R. G. 1997. Funciones de la vitamina E en la nutrición humana. *Revista cubana de alimentación y nutrición* 11 (1):46-57.
- SAGARPA, 2006. Boletín SAGARPA café. México D.F.
- SAGARPA 2012. México. Disponible en [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=350](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350).
- SAGARPA 2014. Programa nacional pecuario 2007-2012. Disponible en <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Programa%20Nacional%20Pecuario/Attachments/1/PNP260907.pdf>
- Sales, J. N. S., Días, L. M. K., Viveiros, A. T. M., Pereira, M. N., Souza, J. C. 2008. Embryo production and quality of Holstein heifers and cows supplemented with  $\beta$ -carotene and tocopherol. *Animal Reproduction Science*, 106:77–89.
- Sante´Lhoutellier, V., Engel E., Gatellier P. 2008. Assessment of the influence of diet on lamb meat oxidation. *Food chemistry*, 109:573-579.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2014. Consultado 11/02/2014. Disponible en [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)
- Shkolnik, K., Tadmor, A., Ben-dor, S., Nevo, N., Galiani, D. y Dekel, N. 2008. Reactive oxygen species are indispensable in ovulation. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences)*, 108 (4):1462-1467.
- Sönmez, M., Bozkurt, T., Türk, G., Gür, S., Kizil, M., Yüce, A. 2009. The effect of vitamin E during preovulatory period on reproductive performance of goats following estrous synchronization using intravaginal sponges. *Animal Reproduction Science*, 114:183–92.
- Soong, Y. Y., Barlow, P. J. 2006. Quantification of gallic acid and ellagic acid from long an (*Dimocarpus longan Lour.*) seed and mango (*Mangifera indica L.*) kernel and their effects on antioxidant activity. *Food Chemistry*, 97:524–530.

- Sroka, Z., Cisowski, W. 2003. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41:753–758.
- Stookey, J. D. 1999. The diuretic effects of alcohol and caffeine and total water intake misclassification. *European Journal of Epidemiology*, 15:181-188.
- Tucker, C. M., Eakin, H., Castellanos, E. J. 2010. Perceptions of risk and adaptation: Coffee producers, market shocks, and extreme weather in Central America and Mexico. *Global Environmental Change*, 20:23–32.
- Turk, R., Podpečan, O., Mrkun, J., Kosec, M., Flegar-Mestric, Z., Perkov, S., Starič, J., Robić M., Belić, M., Zrimšek, P. 2013. Lipid mobilisation and oxidative stress as metabolic adaptation processes in dairy heifers during transition period. *Animal Reproduction Science*, 141:109–115.
- Ulloa, R. J. B., Verreth, J. A. J., Amato, S., Huisman, E. A. 2003. Biological treatments affect the chemical composition of coffee pulp. *Bioresource Technology*, 89:267-274.
- Vázquez-Añon, M., Nocek, J., Bowman, G., Hampton, T., Atwell, C., Vázquez, P., Jenkins, T. 2008. Effects of Feeding a Dietary Antioxidant in Diets with Oxidized Fat on Lactation Performance and Antioxidant Status of the Cow. *Journal Dairy Science*, 91:3165-3172.
- Yen, G. C., Duh, P. D., Tsai, H. L. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, 79:307–313.



## II. CAMBIOS EN COMPOSICIÓN, CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA DE CAFÉ DURANTE EL ENSILAJE

### 2.1 Resumen

El objetivo del presente estudio fue determinar la calidad nutritiva, la presencia de compuestos antioxidantes y la capacidad antioxidante de la pulpa de café antes y después del ensilaje con 5 % de melaza. Se determinó materia seca (MS), proteína cruda (PC), cenizas, fibra detergente ácida (FDA), fibra detergente neutra (FDN) y lignina. Se evaluaron los compuestos antioxidantes presentes en la pulpa de café y la capacidad antioxidante. Se utilizó un diseño completamente al azar, y un análisis de varianza con ocho repeticiones por tratamiento. En el ensilado aumentó el porcentaje de PC de 9.86 a 11.16 %, la FDN de 41.46 a 51.95 %, la FDA de 38.39 a 43.93 % y la lignina de 12.29 a 13.36 %. La cafeína disminuyó de 0.57 a 0.50 %. Se detectaron tres compuestos antioxidantes, de los cuales el ácido cafeico disminuyó ( $P < 0.05$ ) en el ensilado (1.64 vs 1.46 %). El ácido gálico (0.28 vs 0.25 %) y el ácido clorogénico (6.21 vs 5.60 %) no fueron diferentes ( $P > 0.05$ ), al igual que la capacidad antioxidante de la pulpa de café sin ensilar (215.66  $\mu\text{mol trolox/g MS}$ ) y la pulpa de café ensilada (206.59  $\mu\text{mol trolox/g MS}$ ). A pesar de que el contenido de ácido cafeico disminuyó debido al proceso de ensilaje, es posible usar la pulpa de café ensilada o sin ensilar para alimentación animal por su alta capacidad antioxidante.

**Palabras clave:** *cafeico, cafeína, clorogénico, ensilado, gálico, trolox.*

## 2.2 Abstract

The objective of the present study was to determine the nutritive value, the presence of antioxidant compounds, and the antioxidant capacity of coffee pulp either ensiled or non-ensiled. Dry matter (DM), crude protein (CP), ash, acid detergent fiber (ADF), neutral detergent fiber (NDF), and lignin were determined. The antioxidant compounds present in the coffee pulp and their antioxidant capacity were determined. A completely random design was used. Data were analyzed by analysis of variance. Ensiling of coffee pulp increased CP content from 98.6 to 111.6 g/kg DM, NDF from 414.6 to 519.5 g/kg DM, ADF from 383.9 to 439.3 g/kg DM, and lignin from 122.9 to 133.6 g/kg DM. Caffeine decreased from 5.72 to 5.02 mg/g DM. Three antioxidant compounds were detected. Caffeic acid decreased ( $P < 0.05$ ) due to ensiling (16.49 vs 14.69 mg/g DM). Gallic acid (2.88 vs 2.58 mg/g DM) and chlorogenic acid (62.12 vs 56.00 mg/g DM) did not differ ( $P > 0.05$ ), being also similar the antioxidant capacity of non-ensiled coffee pulp (215.66  $\mu\text{mol trolox/g DM}$ ) and ensiled coffee pulp (206.59  $\mu\text{mol trolox/g DM}$ ). Despite the decrease of caffeic acid content due to the ensiling process, it is possible to use either ensiled coffee pulp or non-ensiled coffee pulp for animal feeding because of their high antioxidant capacity.

**Key words:** *caffeic, caffeine, chlorogenic, silage, gallic, trolox.*

## 2.3 Introducción

El café es una de las bebidas más consumidas en el mundo. En el despulpado se producen 400 g de pulpa de café/kg de cereza, la cual es poco utilizada y en ocasiones representa una fuente de contaminación de ríos y arroyos. Se ha evaluado la ganancia de peso, consumo de alimento y

eficiencia alimenticia, en cerdos (Barrueta *et al.*, 2000), borregos (Ferreira *et al.*, 2000) y alevines (Bautista *et al.*, 2005) alimentados con pulpa de café y se ha demostrado que es posible utilizarla pero limitando su inclusión en la dieta debido a la presencia de algunos factores antinutricionales como la cafeína y los taninos. Se han utilizado diferentes métodos para reducir el contenido de cafeína (Mazzafera, 2002; Tagliari *et al.*, 2003; Orozco *et al.*, 2008); sin embargo, su aplicación ha sido difícil debido a los grandes volúmenes de pulpa que se generan en el despulpado del grano, además de que se incrementan los costos de producción. Debido a su alto contenido de humedad y rápida descomposición, una alternativa para su almacenamiento es el ensilaje agregando melaza a la pulpa fresca (Ulloa *et al.*, 2003). Por otra parte, las bebidas a base de café han demostrado que tienen una fuerte actividad antioxidante (Richelle *et al.*, 2001), esta actividad es debida a la gran cantidad de compuestos fenólicos presentes en el grano (Farah y Marino, 2006), los cuales se reducen por el tipo de tostado, lo que se debe a la disminución en la concentración de polifenoles (Castillo *et al.*, 2002; Da Silveira *et al.*, 2005). Al igual que el grano, a la pulpa de café se le han atribuido algunas propiedades antioxidantes (Arellano *et al.*, 2011) y es posible que algunas prácticas de manejo alteren su capacidad antioxidante. Además de la cantidad de nutrientes presentes en la pulpa de café, el conocimiento del perfil de antioxidantes y de su capacidad antioxidante pudiera ayudar a disminuir el estrés oxidativo en los animales. Por lo que es necesario determinar si el ensilaje puede afectar sus características químicas. El objetivo de este trabajo fue determinar la calidad nutritiva, compuestos antioxidantes y la capacidad antioxidante de la pulpa de café antes y después de ensilarla con 5 % de melaza.

## 2.4 Materiales y Métodos

La presente investigación fue realizada de acuerdo a las normas de ética y bioseguridad del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México.

La cereza de café (*Coffea arabica*) fue cosechada en el municipio de San Juan Lachao, Oaxaca, México, el cual está ubicado a 16° 09' N y 97° 07' O a 1000 msnm, con un promedio de precipitación de 2200 mm anuales (INEGI, 2011). Esta fue despulpada en húmedo dentro de las 12 horas después de cosechada y se dejó reposar por 12 horas para permitir que perdiera el excedente de agua adquirida durante el despulpado. Posteriormente la pulpa fue mezclada con 5 % de melaza y se ensiló en 8 tambos de plástico con una capacidad de 200 kg. El tiempo de fermentación duró 60 días. Al término del ensilaje se tomó el pH en la pulpa de café fermentada. Antes y después del ensilaje se tomaron 3 muestras de 1.50 kg por tambo (parte superior, media e inferior) mezclándose para obtener una sola muestra por tambo. Estas muestras fueron divididas en tres submuestras.

La primera submuestra fue deshidratada a 55 °C y utilizada para determinar materia seca (MS), cenizas, proteína cruda (PC) mediante la técnica de AOAC (1990); fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y lignina mediante la técnica de Van Soest *et al.* (1991).

La segunda fue utilizada para determinar ácidos grasos volátiles y ácido láctico. Para esto, 20 g de material fresco fueron pesados, se les agregaron 20 mL de agua destilada, se licuó, se filtró y se mezcló en una proporción 4:1 con ácido metafosfórico al 25 %. La determinación de ácidos grasos volátiles se realizó mediante la técnica de Erwin *et al.* (1961) y de ácido láctico por la técnica modificada de Taylor (1996).

La tercera submuestra fue liofilizada a  $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 5 días. Se pesó un gramo de muestra liofilizada, se le agregaron 5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ , se agitó por 20 minutos, posteriormente se centrifugó a 5,000 rpm durante 10 minutos y se recogió el sobrenadante. Este extracto acuoso se filtró a través de un acrodisco de nylon con  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  de diámetro de poro. Posteriormente se inyectó en un cromatógrafo de líquidos marca Aglyen Technologies modelo 1100, equipado con un arreglo de diodos e inyector automático marca Aglyen Technologies modelo 1200. La columna que se utilizó fue una Nucleosil 100 A,  $125 * 4.00\text{ mm}$  de tamaño de partícula. Para conocer los compuestos antioxidantes presentes en la pulpa de café se realizó el análisis por gradiente utilizando metanol en A y 5% de ácido fórmico en  $\text{H}_2\text{O}$  en B. La velocidad de flujo fue de 1.50 mL por minuto a una temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , inyectando  $20\text{ }\mu\text{l}$  de muestra y leyendo a 280 nm. Diez ácidos con propiedades antioxidantes de la marca sigma fueron utilizados para la construcción de la curva estándar, estos fueron el gálico, clorogénico, sirínico, vainillínico, 2-5-di-hidroxibenzoico, cafeico, p-hidroxibenzoico, 2-3-di-hidroxibenzoico, ferúlico y p-coumárico.

Para determinar la cantidad de cafeína presente en la pulpa se realizó un análisis isocrático utilizando agua y acetonitrilo grado HPLC en una proporción 75:25. Se inyectaron  $10\text{ }\mu\text{l}$  de la muestra a una velocidad de flujo de 0.80 mL por minuto, temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  y lectura a 273 nm. Para la elaboración de la curva estándar se utilizó como estándar cafeína de la marca Merck.

Para medir la capacidad antioxidante se utilizó la misma submuestra utilizada para detectar los compuestos antioxidantes y la cafeína. Antes de medir la capacidad antioxidante, un extracto de la muestra se obtuvo de acuerdo a la técnica descrita por [Restrepo et al. \(2009\)](#) con algunas adaptaciones. Ésta consistió en pesar 0.50 g de pulpa de café, se hizo un lavado con 10 mL de metanol al 50 % en agua y acidificó con HCl 2N a un pH de 2. Posteriormente se agitó durante 1 h a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  y se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Se recolectó el sobrenadante y

el precipitado se trató con una mezcla de 70 % de acetona y 30 % de agua, se agitó y se centrifugó de igual manera que en la primera dilución. Este segundo sobrenadante se recolectó y se mezcló con el primero. La capacidad antioxidante se midió usando la técnica FRAP (poder antioxidante de reducción férrica) de [Benzie y Strain \(1999\)](#). Con la modificación a la técnica que las muestras se incubaron en agitación por 20 minutos, para posteriormente ser leídas en un espectrofotómetro a 593 nm. Para su interpretación las curvas patrón se realizaron con diferentes concentraciones de trolox (ácido 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametil-croman-2-carboxílico), el cual es un equivalente hidrosoluble de la vitamina E.

Se usó un diseño completamente al azar con dos tratamientos: Pulpa de café sin ensilar y pulpa de café ensilada, con 8 repeticiones. Las unidades experimentales fueron los tambos. Se utilizó un análisis de varianza considerando a los tambos donde fue ensilada la pulpa de café como bloque. Se utilizó el paquete estadístico [SAS \(Statistical Analysis System, versión 9, 2002\)](#). El modelo usado fue:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Donde:  $Y_{ij}$  = Variable respuesta,  $\mu$  = media general,  $\tau_i$  = efecto del  $i$ -ésimo tratamiento,  $\beta_j$  = efecto del  $j$ -ésimo tambo y  $\epsilon_{ij}$  = error experimental.

## **2.5 Resultados y discusión**

El pH de la pulpa de café después de dos meses de fermentación fue de 4.16 (Cuadro 2.1). Este se encuentra cercano a 4, en el cual se inhibe el crecimiento bacteriano ([Ryser et al., 1997](#)). Sin embargo, en cebada se han reportado valores de pH superiores a 4.50 y con valores de ácido láctico y acético altos, lo que indica una buena fermentación ([Hristov y McAllister, 2002](#)). Se encontró 1.85% de ácido acético en el ensilado, sin que se detectara ácido propiónico ni ácido

butírico (Cuadro 2.1). A pesar del alto contenido de humedad en el ensilado, al no detectarse ácido butírico el ensilado de pulpa de café no presentó olor o sabor desagradable, lo que podría causar rechazo por los animales. Se encontró un elevado valor de ácido láctico (4.73 %), mayor que los reportados para ensilados de maíz y sorgo (Jaurena, 2008). El elevado contenido de ácido láctico indica que había suficientes carbohidratos solubles en la pulpa de café, la cual tiene un sabor dulce por la presencia de gran cantidad de azúcares, además de que se le adicionó 5% de melaza, lo que aumentó su contenido de carbohidratos solubles. Debido a esto es importante conocer si la inclusión de melaza es necesaria en el ensilado de este subproducto o si para fines prácticos y económicos su uso puede omitirse.

Cuadro 2.1. pH, ácido láctico y concentración de ácidos grasos volátiles en pulpa de café ensilada por 60 días con 5 % de melaza

Característica	Valor
pH	4.16 ± 0.06
Ácido acético (%)	1.854 ± 1.34
Ácido propiónico (%)	No detectado
Ácido butírico (%)	No detectado
Ácido láctico (%)	4.738 ± 1.64

La composición de los nutrientes encontrados en la pulpa de café antes de ensilar y después del ensilaje (Cuadro 2.2), muestra que la pulpa de café con 5 % de melaza contiene 76.40 % de humedad. A pesar de tener poca cantidad de materia seca el ensilado no se descompuso ni presentó malos olores. El porcentaje de cenizas para la pulpa de café no fue diferente ( $P>0.05$ ) antes de ensilar ni para la pulpa ensilada. Estos valores de cenizas son superiores a los

encontrados por [Figueroa y Mendoza \(2010\)](#) que reportan promedios de 6.6 % y a los encontrados por [Bautista et al. \(2005\)](#) que reportan 7.4 % para pulpa de café sin fermentar y 6.9 % para la pulpa de café ensilada con 5 % de melaza. El alto valor de cenizas encontrado posiblemente se deba al método de cosecha manual y al proceso de despulpado, en los cuales se pudo contaminar con diferentes minerales del suelo.

En lo que se refiere al porcentaje de PC, en el ensilado aumentó ( $P < 0.05$ ) a 11.16 % comparado con 9.86 % de la pulpa sin ensilar. [Noriega et al. \(2009\)](#) reportan que el porcentaje de PC aumentó en la pulpa de café al aumentar el tiempo de ensilaje, observando los niveles máximos de PC a los 120 d de ensilaje. Por el contrario [Bautista et al. \(2005\)](#) no encontraron un aumento en el porcentaje de PC al evaluar la pulpa de café sin ensilar, ensilada con 5 % de melaza y sin ningún aditivo. El valor promedio de PC reportado por estos autores fue de 8.5 %. Por su parte [Molina et al. \(1990\)](#) en pulpa de café sin fermentar determinaron 11.43 % de proteína cruda, mientras que [Figueroa y Mendoza \(2010\)](#) en pulpa de café variedad Typica sin fermentar reportaron 11.5% de proteína el cual es similar al encontrado en el presente estudio. Es posible que las diferencias encontradas entre autores se deban a diferentes factores tales como estado de madurez, tipo de suelo, variedad o fertilización de los cafetos. Los cafetales en los que se recolectaron las muestras para este trabajo, no son fertilizados y se encuentran bajo sombra en un sistema de producción orgánica. El valor de FDN se incrementó de 41.46 a 51.95 % ( $P < 0.05$ ), mientras que la FDA aumentó de 38.39 % a 43.93 % ( $P < 0.05$ ) al ensilar la pulpa de café. Estos resultados contrastan con [Molina et al. \(1990\)](#) que reportan que el ensilado disminuye la FDN de 45.4 a 38.5 % y la FDA de 44.2 a 37.0 %, mientras que [Villalba et al. \(2011\)](#) reportaron 61.58 % de FDN y 37.21 % de FDA en la pulpa de café ensilada con 5 % de melaza. Las diferencias entre autores para los valores de FDN, FDA y PC posiblemente se deba



a factores similares a lo reportado en el ensilado de maíz, en el cual el estado de madurez y la variedad modifican dichos valores (Vilela *et al.*, 2008).

El porcentaje de lignina se incrementó un 1.07% del total de la MS ( $P < 0.05$ ). A medida que la materia seca se va perdiendo durante el ensilaje, su composición química también cambia, esto debido principalmente a que existe una pérdida de carbohidratos solubles, que se mezclan durante la fermentación con los efluentes, mientras que la fibra se mantiene intacta, por lo que aumenta su proporción durante el proceso de fermentación, y por lo tanto el porcentaje de FDN, FDA y lignina puede ser mayor. Pedroso *et al.* (2005) en caña de azúcar encontraron que la PC, FDA, FDN y lignina, incrementaron su concentración en la materia seca debido a la gran pérdida de nutrientes solubles en forma de gases, conversión a agua y en menor grado a efluentes. En el presente experimento el aumento se pudo deber a que además de los azúcares presentes en la pulpa de café se le adicionó 5% de melaza, los cuales pudieron transformarse a ácido láctico o perderse durante el ensilaje lo que provocó que aumentara la proporción de PC, FDA, FDN y lignina.

Cuadro 2.2. Composición de la pulpa de café antes y después de ensilar con 5% melaza (datos en base seca)

Nutriente	TRATAMIENTOS		SEM	Valor de P
	Pulpa de café sin ensilar (%)	Pulpa de café ensilada (%)		
Humedad (%)	76.40	78.10	0.756	0.234
Cenizas (%)	14.56	14.47	0.520	0.901
PC (%)	9.86 <sup>b</sup>	11.16 <sup>a</sup>	0.168	<0.0001
FDN (%)	41.46 <sup>b</sup>	51.95 <sup>a</sup>	1.017	0.0014
FDA (%)	38.39 <sup>b</sup>	43.93 <sup>a</sup>	0.940	<0.0001
Lignina (%)	12.29 <sup>b</sup>	13.36 <sup>a</sup>	0.302	0.027

a, b: letras distintas a y b en la misma fila indican diferencia (P<0.05).

El ensilado disminuyó (P<0.05) la cantidad de cafeína de 0.57 % a 0.50 % (Cuadro 2.3). Estos valores son inferiores a los reportados por [Ferreira et al. \(2001\)](#) que observaron un promedio de 0.87% para pulpa de café deshidratada de tres variedades cultivadas en Brasil. [Molina et al. \(1990\)](#) al fermentar la pulpa de café con urea y fosfato dicálcico e inocularla con *Aspergillus niger* lograron reducir el porcentaje de cafeína de 0.98 a 0.72 %. A pesar de que la cafeína ha sido mencionada como un factor limitante para la alimentación animal, se ha logrado la inclusión de pulpa de café en diferentes niveles en las dietas de los animales ya sea ensilada o sin ensilar sin que ocasionen problemas ([Barrueta et al., 2000](#), [Ferreira et al., 2000](#) y [Bautista et al., 2005](#)).

En la pulpa de café antes y después de ensilada se encontraron compuestos que han mostrado capacidad antioxidante (Cuadro 2.3), tales como ácido cafeico ([Gülcin, 2006](#)), ácido gálico ([Hun Kim et al., 2008](#)) y ácido clorogénico ([Ohnishi et al., 1994](#)). El ácido cafeico disminuyó su

concentración debido al proceso de ensilaje ( $P < 0.05$ ) de 1.64 a 1.46 %. Este ácido es un potente antioxidante el cual es comparado con el alfa tocoferol (Gülcin, 2006).

Tanto en el ácido gálico y en el ácido clorogénico se observó una disminución en su concentración al ensilar la pulpa de café; sin embargo, estas no fueron significativas ( $P > 0.05$ ).

Molina *et al.* (1990) reportaron que la fermentación con *Aspergillus niger* disminuye la concentración de polifenoles, sin especificar de qué tipo. Además de la pulpa de café se ha encontrado ácido clorogénico en otros subproductos que envuelven la cereza, el pergamino y el grano de café (Murthy y Naidu, 2012).

Torres-Mancera *et al.* (2011) lograron extraer de la pulpa de café, usando métodos de extracción enzimática, 0.52 % de ácidos hidroxinámicos de los cuales 58.70 % correspondieron a ácido clorogénico, 37.60 % a ácido cafeico, 2.10% a ácido ferúlico y 1.50 % a ácido p-coumárico. Estos autores destacan la importancia de la extracción de dichos compuestos ya que presentan actividades anticarcinogénicas, antiinflamatorias y propiedades antioxidantes. En el presente trabajo el ácido clorogénico representó la mayor parte de los antioxidantes, seguido del cafeico, sin embargo; a diferencia de Torres-Mancera *et al.* (2011) se logró detectar ácido gálico a concentraciones de 0.28 % en pulpa de café sin ensilar y 0.25 % en pulpa de café ensilada.

Arellano González *et al.* (2011) reportaron que la fermentación de la pulpa de café con *Aspergillus tamarii* redujo el contenido total de ácidos hidroxinámicos en un 34 %. Sin embargo; el contenido de ácidos hidroxinámicos libres, los cuales no están ligados a la pared celular se incrementó en un 134 %. Los autores atribuyen estos cambios a la acción enzimática de *Aspergillus tamarii* en la pared celular, con lo cual explican las propiedades antioxidantes de la pulpa de café fermentada.

Cuadro 2.3. Niveles de cafeína, compuestos antioxidantes y capacidad antioxidante de la pulpa de café antes y después de ensilar, expresados en base seca

Compuesto	TRATAMIENTOS		SEM	Valor de P
	Pulpa de café sin ensilar	Pulpa de café ensilada		
Cafeína (%)	0.57 <sup>a</sup>	0.50 <sup>b</sup>	0.022	0.038
Ácido cafeico (%)	1.64 <sup>a</sup>	1.46 <sup>b</sup>	0.059	0.024
Ácido gálico (%)	0.28 <sup>a</sup>	0.25 <sup>a</sup>	0.025	0.357
Ácido clorogénico	6.21 <sup>a</sup>	5.61 <sup>a</sup>	0.276	0.295
FRAP (μmol trolox/g MS)	215.66	206.59	13.59	0.647

a, b: letras distintas en la misma fila indican diferencia (P<0.05)

A pesar de que el ácido cafeico disminuyó su concentración en la pulpa de café ensilada y de la tendencia a la disminución del ácido clorogénico y el ácido gálico, los valores de capacidad antioxidante medida por la técnica de reducción férrica (FRAP) resultó ser similar (P>0.05) para la pulpa de café sin ensilar (215.66 μmol/trolox g MS) y para la pulpa de café ensilada con 5 % de melaza (206.59 μmol trolox/g MS) (Cuadro 2.4).

El ácido cafeico presente en la pulpa de café puede ser responsable de una parte de su capacidad antioxidante. [Gülcin \(2006\)](#) al medir la capacidad de este compuesto encontró que el ácido cafeico tiene 20.10 % más de capacidad antioxidante que el trolox el cual es análogo del alfa tocoferol y 54.70 % más que el tocoferol.

A pesar de que el ácido gálico se encontró en menor cantidad que el ácido clorogénico y el ácido cafeico, este puede contribuir en la actividad antioxidante de la pulpa de café. Se ha demostrado que el ácido gálico tiene más actividad captadora de peróxido de hidrógeno, seguido por el ácido cafeico y posteriormente por el ácido clorogénico ([Sroka y Cisowski, 2003](#)). Por su parte [Sato et](#)

*al.* (2011) al evaluar las propiedades antioxidantes *in vitro* e *in vivo* del ácido cafeico y del ácido clorogénico, encontraron que el ácido cafeico tiene mayor actividad antioxidante que el ácido clorogénico.

La capacidad antioxidante encontrada para pulpa de café en el presente estudio es mayor que la de la fibra del cacao (73.32  $\mu\text{mol/g MS}$ ), la cual contiene compuestos fenólicos que se ha demostrado se absorben e incrementan la capacidad antioxidante en suero de ratas (Lecumberri *et al.*, 2006). En bebidas de café se ha reportado que el tipo de preparación modifica su capacidad antioxidante, se han encontrado 199.00  $\mu\text{mol/g MS}$  en café italiano, 162.00  $\mu\text{mol/g MS}$  para café expreso y 236.00  $\mu\text{mol/g MS}$  para el filtrado (Sánchez *et al.*, 2005).

Li *et al.* (2008) al evaluar 45 plantas medicinales en China con diferentes concentraciones de polifenoles, reportaron diferentes concentraciones de trolox de las cuales 42 son muy inferiores a las encontradas para pulpa de café; *Paeonia lactiflora Pall* y *Paeonia suffruticosa Andr* resultaron ser similares y sólo *Sargentodoxa cuneata Rehd. Et Wils* mostró mayores  $\mu\text{mol trolox/g}$  a las encontradas en el presente estudio. De igual manera la concentración de trolox en la pulpa de café son mayores a las encontradas por Tiveron *et al.* (2012) en 23 diferentes vegetales producidos en Brasil.

Debido a las prácticas actuales de producción como son la suplementación de los animales con ácidos grasos polinsaturados para mejorar su valor nutricional, la cual aumenta la susceptibilidad a la lipoperoxidación (Gladine *et al.*, 2007a); a algunos eventos fisiológicos críticos como los de gestación (Garrel *et al.*, 2010) y transición al parto (Gitto *et al.*, 2002); en prácticas de manejo como los protocolos de sincronización (Sönmez *et al.*, 2009), o para mejorar la vida de anaquel de los productos cárnicos (Karre *et al.*, 2013), la pulpa de café puede ser un subproducto

agrícola con gran potencial para reducir el estrés oxidativo en animales en etapas fisiológicas demandantes, ya que demuestra tener alta capacidad antioxidante. Se han realizado algunos trabajos para evaluar los antioxidantes naturales en la respuesta animal. [Gladine et al. \(2007b\)](#) al estudiar cuatro diferentes plantas ricas en polifenoles, lograron determinar que tienen alta capacidad antioxidante y que son eficientes para disminuir la lipoperoxidación proveniente de dietas con ácidos grasos poliinsaturados ([Gladine et al., 2007a](#)). Las hojas de tomillo (*Thymus zygis ssp. gracilis*) que tienen actividad antioxidante, reducen la oxidación de la carne de corderos provenientes de borregas suplementadas con estas hojas durante la gestación ([Nieto et al., 2011](#)). Extractos de hojas de Verbenaceae (*Lippia spp.*), que contiene 0.17 % de ácido gálico, entre otros fenoles, ha demostrado reducir los niveles de oxidación en plasma en borregas posparto ([Casamassima et al., 2012](#)). Otras plantas como romero, uva, cítricos y caléndula han mostrado eficacia en reducir la lipoperoxidación de plasma ([Gladine et al., 2007b](#)).

Queda demostrado que además del grano de café que es usado en bebidas para consumo humano y de los residuos del tostado de dicho grano, los cuales muestran propiedades antioxidantes ([Jye Yen et al., 2005](#)), la pulpa de café es un subproducto agrícola con alta disponibilidad en zonas cafetaleras que tiene un valor nutricional aceptable y de acuerdo a lo encontrado en el presente trabajo, contiene un alto contenido de polifenoles, además de su capacidad antioxidante que puede ser utilizada para proteger a los animales del estrés oxidativo, ya que se ha demostrado que aún en rumiantes, durante la digestión no se inhiben las propiedades antioxidantes de las plantas ricas en polifenoles ([Gladine et al., 2007b](#)).

## 2.6 Conclusiones

El ensilado de pulpa de café aumentó el contenido de PC, así como la FDA, FDN y lignina. Se encontraron compuestos antioxidantes como el ácido clorogénico, ácido cafeíco y ácido gálico. El ácido cafeíco disminuyó por efecto del ensilaje; sin embargo, la capacidad antioxidante permaneció sin cambios, por lo que la pulpa de café sin ensilar o ensilada muestra gran capacidad antioxidante, la cual podría ser probada para proteger a los animales en estados de estrés oxidativo.

## 2.7 Literatura citada

- AOAC. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemist. Washington, D. C. 1990. p.1298.
- Arellano, G. M., Ramírez, C. A., Torres, M. T., Pérez, M. G., Saucedo, C. G. 2011. Antioxidant Activity of fermented and nonfermented coffee (*Coffea arabica*) pulp extracts. Food Technology Biotechnology 49:374–378.
- Barrueta, D. E., Bautista, E. O., Acevedo, L. 2000. Pulpa de café ensilada en dietas para cerdos en crecimiento y engorde. Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias, 41:85-90.
- Bautista, E. O., Pernia, J., Barrueta D., Useche, M. 2005. Pulpa ecológica de café ensilada en la alimentación de alevines del híbrido Cachamay (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomus*). Revista Científica Universidad de Zulia, 15:33-40.
- Benzie, I; Strain, J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymol, 299:15-27.
- Casamassima, D, Palazzo, M., Martemucci, G., Vizzarri, F., Corino, C. 2012. Effects of verbascoside on plasma oxidative status and blood and milk production parameters during the peripartum period in Lacaune ewes. Small Ruminant Research, 105:1-8.
- Castillo, M.D., Ames, J. M., Gordon M. 2002. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. J. Agric. Food Chem., 50:3698-3703.

- Da Silveira, D. S., Patto, A. M., Castle, M. H., Dos Santos, M. E., Paiva C. M, C. 2005. Effect of processing and roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*, 25:87-393.
- Erwin, E. S., Marco, G. J., Emery, E. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*, 44:1768-1771.
- Farah, A., Marino, D. C. 2006. Phenolic compounds in coffee. *Braz. J. Plant Physiol.*, 18: 23-36.
- Ferreira, I., Olalquiaga, J., Teixeira, J. 2000. Desempenho de cordeiros Texel x Bergamácia, Texel x Santa Inês e Santa Inês puros, terminados em confinamento, alimentados com casca de café como parte da dieta. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29:564-572.
- Ferreira, B. A., Aguiar, A. P., Pérez, O. J., Santos, V. B., Cardoso, R. M. 2001. Factores antinutricionais da casca e da polpa desidratada de café (*Coffea arabica L.*) armazenadas em diferentes períodos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30:1325-1331.
- Figueroa, H. J. G., Mendoza, A. J. 2010. Cuantificación de minerales K, Ca, Mg y P en pulpa y pergamino de café (*Coffea arabica L.* var. *Typica*). *Rev Venez Cienc Tecnol Aliment*, 1:221-230.
- Garrel, C., Fowler, P. A., Al-gubory, K. 2010. Developmental changes in antioxidant enzymatic defences against oxidative stress in sheep placentomes. *Journal of Endocrinology*, 205:107-116.
- Gitto, E., Reiter, R. J., Karbownik, M., Tan, D. X., Gitto, P. Barberi, S., Barberi, I. Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period. *Biol. Neonate*, 81:146-157.
- Gladine, C., Morand, C., Rock, E., Bauchart, D., Durand, D. 2007a. Plant extracts rich in polyphenols (PERP) are efficient antioxidants to prevent lipoperoxidation in plasma lipids from animals fed n-3 PUFA supplemented diets. *Animal Feed Science and Technology*, 136:281-296.
- Gladine, C., Rock, E., Morand, C., Bauchart, D., Durand, D. 2007b. Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition*, 98:691-701.
- Gülcin, I. 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*, 217:213-220.
- Hristov, A. N., McAllister, T. A. 2002. Effect of inoculants on whole-crop barley silage fermentation and dry matter disappearance in situ. *Journal Animal Science*, 80:510-516.
- Hum Kim, J., Joo Kang, N., Kyung Lee, B., Lee, K. W., Lee, H. J. 2008. Gallic acid, a metabolite of the antioxidant propyl gallate, inhibits gap junctional intercellular



- communication via phosphorylation of connexin 43 and extracellular-signal-regulated kinase1/2 in rat liver epithelial cells. *Mutation Research*, 638:175–183.
- INEGI. 2011. México. Available at: <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?e=20>. Accessed: Enero 28, 2013.
- Jaurena, G. Contribución de la inoculación bacteriana a la fermentación de silajes de planta entera de maíz y sorgo. 2008. *Revista Argentina de Producción Animal*, 28:21-29.
- Jye Yen, W., Wang, B. S., Chang, L. W., Duh, P. D. 2005. Antioxidant properties of roasted coffee residues. *J. Agric. Food Chem.*, 53:2658–2663.
- Karre, L., Lopez, K., Getty K. J. K. 2013. Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Science*, 94 (2):220-227.
- Lecumberri, E., Mateos, R, Ramos, S, Alía, M., Ruperez, P., Goya, L., Izquierdo-Pulido, M., Bravo, L. 2006. Caracterización de la fibra de cacao y su efecto sobre la capacidad antioxidante en suero de animales en experimentación. *Nutrición Hospitalaria*, 21:622-628.
- Li, H.B., Wong, C. C., Cheng, K. W., Chen, F. 2008. Antioxidant properties *in vitro* and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT-Food Science and Technology*, 41:385–390.
- Mazzafera, P. 2002. Degradation of caffeine by microorganisms and potential use of decaffeinated coffee husk and pulp in animal feeding. *Scientia Agricola*, 59:815-821.
- Molina, M., Lechuga, O. R., Bressani, R. 1990. Valor nutritivo de la pulpa de café sometida a fermentación sólida usando *Aspergillus niger* en pollos y cerdos. *Agronomía Mesoamericana*, 1:79-82.
- Murthy, P. S., Naidu, M. M. 2012. Recovery of phenolic antioxidants and functional compounds from coffee industry by-products. *Food Bioprocess Technology*, 5:897-903.
- Nieto, G., Bañon, S., Garrido, M. D. 2011. Effect of supplementing ewe's diet with thyme (*Thymus zygis ssp. gracilis*) leaves on the lipid oxidation of cooked lamb meat. *Food Chemistry*, 125:1147-1152.
- Noriega, S. A., Silva, A. R., García, S. M. 2009. Composición química de la pulpa de café a diferentes tiempos de ensilaje para su uso potencial en la alimentación animal. *Zootecnia Tropical*, 27:135-141.
- Ohnishi, M., Morishita, H., Wahashi, H. I., Toda, S., Shirataki, Y., Kimura, M., Kido, R. 1994. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and haemolysis. *Phytochemistry*, 36:579-583.

- Orozco, A. L., Pérez, M. I., Guevara, O., Rodríguez, J., Hernández, M., González-Vila, F. J., Polvillo, O., Arias, M. E. 2008. Biotechnological enhancement of coffee pulp residues by solid-state fermentation with *Streptomyces*. Py-GC/MS analysis. *Journal of Analytical Applied Pyrolysis*, 81:247–252.
- Pedroso, A., Nussio, L., Solidete, P., Santana L. D., Scoton I. M., Michelini, C. R., Packer, I. H., Horii, J., Gomes, L. H. 2005. Fermentation and epiphytic microflora dynamics in sugar cane silage. *Scientia Agricola*, 62:427-432.
- Restrepo, S. D., Narváez, C. C., Restrepo, S. L. 2009. Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. *Quim. Nova*, 32:1517-1522.
- Richelle, M., Tavazzi, I., Offord, E. 2001. Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa, and tea) prepared per cup serving. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:3438-3442.
- Ryser, E. T., Arimi, S. M., Donnelly, C. W. 1997. Effects of pH on distribution of listeria ribotypes in corn, hay, and grass silage. *Applied and Environmental Microbiology*, 63:3695-3697.
- Sánchez, G. I., Jiménez, E. A., Saura, C. F. 2005. *In vitro* antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). *Food Chemistry*, 90:133–139.
- SAS, Statistical Analysis System. 2002. SAS Proceeding Guide, versión 9. SAS Institute. Cary NC. USA.
- Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M., Iseki, K. 2011. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 403:136-138.
- Sönmez, M., Bozkurt, T., Türk, G., Gür, S., Kizil, M., Yüce, A. 2009. The effect of vitamin E during preovulatory period on reproductive performance of goats following estrous synchronization using intravaginal sponges. *Animal Reproduction Science*, 114:183–192.
- Sroka, Z., Cisowski W. 2003. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41:753-758.
- Tagliari, C. V., Sanson, R. K., Zanette, A., Teixeira, F. T., Soccol, C. R. 2003. Caffeine degradation by *Rhizopus delemar* in packed bed column bioreactor using coffee husk as substrate. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34:102-104.
- Taylor, K. A. C. 1996. A simple colorimetric assay for muramic acid and lactic acid. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 56:49-58.

- Tiveron, A. P, Melo, P. S., Bergamaschi, K. B., Thais, Vieira, T. M., Regitano-d'Arce, M. A., Alencar, S. M. 2012. Antioxidant activity of brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. *Internacional Journal Molecular Sciences*, 13:8943-8957.
- Torres-Mancera, M.T., Córdova-López, J., Rodríguez-Serrano, G., Roussos, S., Ramírez-Coronel, M. A., Favela-Torres, E., Saucedo-Castañeda, G. 2011. Enzymatic extraction of HAs from coffee pulp. *Food Technology and Biotechnology*, 49:369–373.
- Ulloa, R., Verreth, J. A., Amato S. 2003. Biological treatments affect the chemical composition of coffee pulp. *Bioresource Technology*, 89:267-274.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral fiber and nonstarch polysaccharides in relation to nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.
- Vilela, H. H., Vilela, A. Vieira, P., Andrade, G. A., Evangelista, A. R., Almeida G. B. 2008. Valor nutritivo de silagens de milho colhido em diversos estádios de maturação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37:1192-1199.
- Villalba, D. K., Holguin, V. A., Acuña, J. A., Piñeiros, V. R. 2011. Calidad bromatológica y organoléptica de ensilajes de residuos orgánicos del sistema de producción café-musáceas. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 4:47-52.

### III. ESTADO OXIDATIVO Y PRODUCTIVIDAD DE OVINOS ALIMENTADOS CON PULPA DE CAFÉ

#### 3.1 Resumen

Con el objetivo de evaluar los parámetros productivos, de fermentación ruminal y estado oxidativo de ovinos alimentados con pulpa de café ensilada con 5 % de melaza, 34 ovinos cruza de Blackbelly con una edad promedio de 6 meses y un peso promedio de  $21.2 \pm 0.63$  kg fueron divididos en tres tratamientos. T0: tratamiento testigo (n=11), T1: tratamiento con 8 % en base seca de pulpa de café en la dieta (n=12) y T2: tratamiento con 16 % en base seca de pulpa de café en la dieta (n=11). Se utilizó un diseño completamente al azar y un análisis de varianza, para el caso de las variables productivas se consideró el peso inicial de los ovinos como covariable. La pulpa de café a los niveles evaluados no afectó la ganancia diaria de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, el consumo de agua, ácido acético, ácido butírico y ácidos grasos volátiles totales se incrementaron al incluir 16 % de pulpa de café en la dieta ( $P < 0.05$ ). No se observaron diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ) en la capacidad antioxidante en el plasma de los ovinos; sin embargo, los valores de TBARS fueron menores para los ovinos alimentados con 16 % de pulpa de café, por lo que la pulpa de café al 16 % redujo la peroxidación lipídica. Se concluye que es posible utilizar la pulpa de café hasta en 16 % del total de la dieta, sin que se afecten los parámetros productivos, además de que al agregarla se disminuye el estrés oxidativo en ovinos en engorda.

**Palabras claves:** *engorda, fermentación, oxidación, tbars, trolox.*

### 3.2 Abstract

In order to evaluate the productive, ruminal fermentation, and oxidative state parameters in sheep fed with coffee pulp ensiled with 5 % molasses, 34 Blackbelly cross-breed sheep, average age 6 months, mean weight 21.2 kg were separated into three treatments. T0: Control treatment (n=11), T1: Treatment with 8 % dry base coffee pulp in the diet (n=12), and T2: Treatment with 16 % dry base coffee pulp in the diet (n=11). A completely random design and a variance analysis were used. In the case of productive variables, the initial weight of the sheep was considered as a covariable. Coffee pulp at the levels evaluated did not affect daily weight gain, feed intake, and food conversion ( $P>0.05$ ). However, water intake, acetic acid, butyric acid, and total volatile fatty acids increased when including 16 % coffee pulp in the diet ( $P<0.05$ ). No statistical differences ( $P<0.05$ ) were observed in the antioxidant capacity in the sheep's plasma; however, the TBARS values were lower for the sheep fed with 16 % coffee pulp, thus coffee pulp at 16 % reduced lipid peroxidation. It is concluded that up to 16 % coffee pulp can be added to the diet without affecting the productive parameters, while at the same time the oxidative stress of meat sheep is decreased.

**Key words:** *fattening, fermentation, oxidation, TBARS, trolox.*

### 3.3 Introducción

México es un país exportador de grano de café. Brasil es el principal productor con el 36 % del volumen total, seguido por Vietnam, Colombia, Indonesia y Etiopia, que en conjunto producen el 69% del volumen mundial total. Debido al mejoramiento de variedades y tecnologías, la producción del grano ha ido en aumento, con una tasa de crecimiento de 1990-2010 de 1.79%

(ICO, 2010). Del total de cereza de café un 40 % lo constituye la pulpa de café, la cual en ocasiones es utilizada para la elaboración de abono orgánico y en otras es desechada sin beneficio alguno siendo fuente de contaminación para afluentes de agua. En diferentes especies animales, la pulpa de café ha sido incluida en la dieta (Barrueta *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2000; Bautista *et al.*, 2005), pero debido a la presencia de compuestos como taninos y cafeína (Ferreira *et al.*, 2001; Noriega *et al.*, 2009) se ha limitado su inclusión en las dietas. También se han encontrado algunos compuestos fenólicos (Ramirez-Coronel *et al.*, 2004) los cuales han mostrado ser potentes antioxidantes (Sroka y Cisowski, 2003). Actualmente las engordas animales se basan en la inclusión de granos para aumentar la ganancia de peso y reducir el tiempo de finalización. Aunque, se ha visto que dietas con granos incrementan el estrés oxidativo en los animales (Mercier *et al.*, 2004). Este disminuye los mecanismos de defensa a enfermedades y en animales en engorda se ha demostrado, que la carne proveniente de animales alimentados con granos muestra un mayor grado de oxidación (Insani *et al.*, 2008). Debido a esto se plantea que la pulpa de café además de tener nutrientes necesarios para la alimentación animal podría proteger al animal de un estado de estrés oxidativo. El objetivo de este trabajo fue evaluar las variables productivas, de fermentación ruminal y el estado oxidativo de ovinos alimentados con diferentes niveles de pulpa de café ensilada con 5 % de melaza en la dieta durante la engorda.

### **3.4 Materiales y métodos**

#### **3.4.1 Ensilaje y análisis de la pulpa de café**

La pulpa de café (*Coffea arabica*) fue ensilada con 5 % de melaza y fermentada por dos meses para posteriormente ser deshidratada. Se le determinó MS, PC y cenizas totales mediante la técnica AOAC (1990); FDN, FDA y lignina mediante la técnica de Van Soest *et al.* (1991). La

cafeína y los compuestos antioxidantes se determinaron diluyendo un gramo de pulpa de café en 5 mL de H<sub>2</sub>O. Este extracto se centrifugó a 5,000 rpm por 10 min. Para la determinación de los antioxidantes presentes en la pulpa de café el sobrenadante se inyectó en un cromatógrafo de líquidos marca Aglyen Technologies modelo 1100, equipado con un arreglo de diodos e inyector automático marca Aglyen Technologies modelo 1200. La columna que se utilizó fue una Nucleosil 100 A, 125 x 4.00 mm de tamaño de partícula. Se utilizó metanol en A y 5 % de ácido fórmico en H<sub>2</sub>O en B. La velocidad de flujo fue de 1.50 mL por minuto a una temperatura de 25 °C, inyectando 20 µL de muestra y leyendo a 280 nm. La curva estándar se construyó con antioxidantes de la marca Sigma.

Para determinar la cantidad de cafeína se realizó un análisis isocrático utilizando agua y acetonitrilo grado HPLC en una proporción 75:25. Se inyectaron 10 µL de la muestra a una velocidad de flujo de 0.80 mL por minuto, temperatura de 25 °C y lectura a 273 nm. Para la elaboración de la curva estándar se utilizó como estándar cafeína de la marca Merck.

### **3.4.2 Animales**

Se utilizaron 34 ovinos enteros cruce de Blackbelly con un peso promedio de 21.2±0.63 kg. Fueron desparasitados vía subcutánea con 10 mg/50 kg de ivermectina, se les suministró intramuscularmente 3 mL de un estimulante metabólico a base de fósforo orgánico y vitamina B12 y se vacunaron con 2.5 mL de bacterina toxoide 8 vías. Los ovinos fueron distribuidos en forma aleatoria a tres tratamientos, T0: testigo (n=11), T1: dieta con 8 % de pulpa de café en base seca (n=12) y T2: dieta con 16 % de pulpa de café en base seca (n=11). Los ingredientes fueron ajustados para balancear las dietas de acuerdo a los requerimientos del [NRC \(1985\)](#). Los ingredientes utilizados, así como la composición química de las dietas se muestran en el cuadro

3.1. Los ovinos se adaptaron a las dietas por 12 días. Posteriormente se sometieron a 56 días de engorda, en los cuales se midieron las variables productivas, de fermentación ruminal y de estado oxidativo.

Cuadro 3.1. Ingredientes y composición química en base seca de las dietas para engorda de ovinos

INGREDIENTE (%)	DIETAS		
	T0	T1	T2
Residuo de alfalfa	57.57	48.53	39.50
Sorgo grano molido	25.24	22.76	21.20
Pasta de soya	14.18	17.69	20.20
Melaza	2.00	2.00	2.00
mezcla de minerales <sup>a</sup>	1.00	1.00	1.00
Pulpa de café	0.00	8.00	16.00
COMPOSICION (%)			
MS	83.73	86.32	86.74
PC	17.05	17.03	17.12
FDA	24.63	21.083	21.21
FDN	37.32	32.36	31.47
Cenizas	9.10	9.05	9.33

T0: Testigo, T1:8 % de pulpa de café y T2:16 % de pulpa de café.

<sup>a</sup> Composición de la sal mineral: Calcio 150 g/kg, Fosforo 70 g/kg, sal común 120 g/kg, Manganeseo 2.5 g/kg, Zinc 4.5 g/kg, Cobre 0.5 g/kg y Hierro 3.5 g/kg.

### 3.4.3 Área del ojo de la costilla y espesor de grasa dorsal

El área del ojo de la costilla (AOC) y espesor de grasa dorsal (EGD) se midió al inicio y al final de la engorda en el último espacio intercostal entre la doceava y la treceava costilla. Para esto se



usó un ultrasonido marca Pie Medical Esaote, modelo Aquila pro y un transductor lineal de 3.5 mhz.

#### **3.4.4 Variables productivas**

Los ovinos se alojaron de manera individual en corrales de 1.2 \* 1.1 metros con comedero y cubetas con agua con capacidad de 6 litros. Se pesaron al inicio y al final de la engorda con una báscula digital MR Torrey modelo L-EQM 250. La ganancia diaria de peso (GDP) se calculó por diferencia entre el peso final y el peso inicial, dividido entre el número de días de engorda. El consumo de alimento (CONS) se midió diariamente en una báscula Torrey, modelo LPCR; este se ofreció 2 veces por día a las 8:00 y 16:00 h para asegurarse que en los comederos se tuviera alimento en todo momento. El rechazo se midió cada tercer día. La conversión alimenticia (CA) se calculó dividiendo el consumo de alimento total entre la ganancia total de peso.

El consumo y rechazo de agua se midió diariamente con una probeta de 1 litro graduada en mililitros.

#### **3.4.5 Digestibilidad *in vivo***

Al final de la engorda 5 borregos del T0, 6 del T1 y 5 del T2 se separaron para determinar la digestibilidad *in vivo*. Se les colocaron bolsas recolectoras de heces durante 8 días, el primer día fue de adaptación a las bolsas y los 7 días restantes se recolectaron las heces por la mañana y por la tarde. El alimento se proporcionó acorde al consumo de cada borrego con la finalidad de que no dejaran residuos. Las heces se pesaron y se congelaron a -4 °C. Al final las muestras individuales se mezclaron y se tomó una muestra de medio kilogramo por cada borrego para su análisis.

En el alimento y en las heces se determinó proteína cruda (PC), materia orgánica y materia seca mediante la técnica [AOAC \(1990\)](#), fibra detergente ácida (FDA) y fibra detergente neutra (FDN) mediante la técnica de [Van Soest \*et al.\* \(1991\)](#). La digestibilidad se determinó por diferencia entre los nutrientes ingeridos y los excretados ([Harris 1970](#)).

#### **3.4.6 pH, AGV's y nitrógeno amoniacal en líquido ruminal**

Finalizada la engorda 5 ovinos por tratamiento fueron sacrificados previo ayuno de 12 horas, se obtuvieron 200 mL de líquido ruminal inmediatamente después del sacrificio, se midió el pH con un potenciómetro marca Thermo Scientific, modelo Orion 3 Star. Ocho mL de líquido ruminal se mezclaron con 2 mL de ácido metafosfórico al 25 % para determinación de AGV y N-amoniaco, los que se congelaron a -20 °C hasta su análisis. La determinación de ácidos grasos volátiles se realizó por cromatografía de gases mediante la técnica de [Erwin \*et al.\* \(1961\)](#). El cromatógrafo utilizado fue un Perkin Elmer, modelo Claurus 500 con columna capilar elite FFAP, dando un tiempo de corrida de 8 minutos.

La determinación del nitrógeno amoniacal se realizó utilizando la técnica de [Mc Cullough \(1967\)](#). La concentración se midió por absorbancia en un espectrofotómetro de luz ultravioleta (Varian, modelo Cary-1-E) a 630 nm.

#### **3.4.7 TBARS y FRAP**

Al inicio del experimento 10 animales fueron muestreados al azar para la obtención de plasma sanguíneo, y otros diez por tratamiento al final de la engorda. Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm a 4 °C por 10 min. El plasma fue depositado en tubos de criostato y almacenados en nitrógeno líquido a -196 °C hasta su análisis.

La capacidad antioxidante se midió usando la técnica FRAP (poder antioxidante de reducción férrica) de [Benzie y Strain \(1999\)](#). Para su interpretación las curvas patrón se realizaron con diferentes concentraciones de trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2-carboxílico), el cual es un equivalente hidrosoluble de la vitamina E.

El análisis de TBARS (Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico) se realizó de acuerdo a la técnica descrita por ([Ohkawa et al., 1979](#)). Para esto se preparó una solución de ácido acético al 20 % ajustado a pH 2.5 con NaOH; TBA (ácido tiobarbitúrico) al 0.8 % en H<sub>2</sub>O; 1,1,3,3-tetraedroxipano (TEP) al 0.1 mM. La curva de reacción se preparó con 1 mL de TBA al 0.8 %, 2 mL de acetato y 0 a 80 µL de TEP para tener concentraciones de 0 nmol/mL a 80 nmol/mL de malondialdehído (MDA). Las muestras se leyeron en un espectrofotómetro UV-V15 marca Thermo Scientific. Los análisis de las muestras se hicieron por duplicado.

### **3.4.8 Análisis estadístico**

Se utilizó un diseño completamente al azar con 3 tratamientos. Para el análisis de las variables evaluadas se realizó un análisis de varianza, para el caso del AOC, EGD y variables productivas se utilizó el peso inicial como covariable y cuando fue detectada alguna significancia menor al 0.05 se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa [SAS versión 9 \(SAS, 2002\)](#).

El modelo utilizado cuando se utilizó peso inicial como covariable fue  $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_0 (P_i - p_i)_k + E_{ij}$ . Donde:  $Y_{ij}$  = Respuesta del i-ésimo tratamiento de la j-ésima repetición,  $\mu$  = Media general,  $T_i$  = efecto del i-ésimo tratamiento,  $\beta_0$  = Coeficiente de regresión lineal,  $(P_i - p_i)_k$  = k-ésima covariable peso inicial y  $E_{ij}$  = Error experimental.

### 3.5 Resultados

#### 3.5.1 Ensilaje y análisis de la pulpa de café

La composición química, los antioxidantes y la cafeína de la pulpa de café ensilada con 5 % de melaza se muestran en el cuadro 3.2. Se encontró 0.50 % de cafeína de la MS total. Los antioxidantes encontrados fueron el ácido clorogénico (5.61 % de la MS), ácido cafeico (1.47 % de la MS) y ácido gálico (0.26 % de la MS).

Cuadro 3.2. Composición química y antioxidantes en base seca de la pulpa de café ensilada con 5 % de melaza

Compuesto	Pulpa de café con 5 % de melaza
MS (%)	86.57
Cenizas (%)	14.47
PC (%)	11.16
FDN (%)	51.95
FDA (%)	43.93
Lignina (%)	13.36
Cafeína (%)	0.50
Ácido clorogénico (%)	5.61
Ácido cafeico (%)	1.47
Ácido gálico (%)	0.26

#### 3.5.2 Área del ojo de la costilla y espesor de grasa dorsal

Al inicio de la engorda los ovinos cruza de Blackbelly tuvieron 7.03, 6.95 y 6.90 cm<sup>2</sup> de AOC y 1.85, 1.74 y 1.84 mm de EGD para T0, T1 y T2, respectivamente, como al inicio de la engorda no existía aún influencia de los tratamientos no se hicieron comparaciones estadísticas para estas

variables. Después de 56 días de engorda los animales tuvieron 11.43, 11.99 y 12.30 cm<sup>2</sup> de AOC y 3.42, 3.08 y 2.95 mm de EGD para T0, T1 y T2, respectivamente (Cuadro 3.3). A pesar de que existió una tendencia a disminuir la grasa dorsal y a aumentar la AOC en los tratamientos con pulpa de café, no se encontraron diferencias entre tratamientos (P>0.05).

Cuadro 3.3. Área del ojo de la costilla y espesor de grasa dorsal al inicio y al final de la engorda en ovinos cruzas de Blackbelly alimentados con diferente inclusión de pulpa de café

Tratamiento	Inicio de la engorda		Final de la engorda	
	AOC (cm <sup>2</sup> )	EGD (mm)	AOC (cm <sup>2</sup> )	EGD (mm)
T0	7.03 ± 0.19	1.85 ± 0.02	11.43 ± 0.032	3.42 ± 0.16
T1	6.95 ± 0.13	1.74 ± 0.04	11.99 ± 0.31	3.08 ± 0.15
T2	6.90 ± 0.21	1.84 ± 0.02	12.30 ± 0.33	2.95 ± 0.16

No se encontraron diferencias (P<0.05) por efecto de tratamiento.  
T0: Testigo, T1: 8 % de pulpa de café y T2: 16 % de pulpa de café.

### 3.5.3 Variables productivas

El peso inicial de los ovinos fue de 20.89 para el T0, 21.2 para el T1 y 21.71 kg para el T2 y finalizaron con 30.34, 31.25 y 32.2 kg de peso para los tratamientos T0, T1 y T2, respectivamente. El CONS fue de 1189.90 g para el T0, 1217.80 para el T1 y 1227.00 para el T2. La GDP fue de 169.13 g para T0, 179.67 para T1 y 186.80 para el T2; no se observaron diferencias (P<0.05), a pesar de encontrarse una tendencia numérica a aumentar la GDP cuando se incrementó la inclusión de pulpa de café en la dieta. La CA (7.06, 6.82 y 6.64 para T0, T1 y T2, respectivamente; cuadro 3.4), mostró una tendencia opuesta al CONS y a la GDP, la cual disminuyó al aumentar la inclusión de pulpa de café, sin ser diferente (P>0.05).

El consumo de agua en los ovinos se incrementó al aumentar la inclusión de pulpa de café en la dieta (Cuadro 3.4). El T0 y T1 fueron similares ( $P>0.05$ ), se observó un aumento de 102.87 mL en el consumo de agua diaria al incluir un 8 % de pulpa de café en la dieta. Al subir el nivel de inclusión a 16 % en la dieta se observó que se incrementó ( $P<0.05$ ) 301.6 mL el consumo diario de agua con respecto a la inclusión del 8 %, y 404.47 mL con respecto al testigo.

Cuadro 3.4. Ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y consumo de agua en ovinos Blackbelly en engorda alimentados con 0, 8 y 16 % de pulpa de café en la dieta

	TRATAMIENTOS		
	T0	T1	T2
Peso inicial	20.89 ± 1.34	21.2 ± 1.01	21.71 ± 1.02
Peso final	30.34 ± 1.54	31.25 ± 1.09	32.20 ± 1.06
CONS (g)	1189.90 ± 27.80	1217.80 ± 26.58	1227.00 ± 27.83
GDP (g)	169.13 ± 6.9	179.67 ± 6.6	186.80 ± 6.9
CA	7.06 ± .19	6.82 ± .18	6.64 ± .19
Consumo de agua (mL)	2514.06 ± 92.79 <sup>b</sup>	2616.93 ± 88.70 <sup>b</sup>	2918.53 ± 92.86 <sup>a</sup>

GDP: Ganancia diaria de peso, CA: conversión alimenticia, CONS: Consumo Diario de Alimento.

a,b: Letras distintas en la misma hilera indican diferencias ( $P<0.05$ ).

T0: Testigo, T1:8 % de pulpa de café y T2:16 % de pulpa de café.

#### 3.5.4 Digestibilidad *in vivo*

La digestibilidad *in vivo* de la PC y FDN (Cuadro 3.5) mostró una tendencia a disminuir con la inclusión de la pulpa de café en la dieta, pero no fue diferente ( $P>0.05$ ). Sin embargo, para el caso de la FDA su digestibilidad disminuyó ( $P<0.05$ ) al incluir 8 % de pulpa de café (42.12 %) en la dieta, con respecto al testigo (49.60 %). A pesar de esto la digestibilidad de la FDA no se

redujo más al incrementarse a 16 % (42.24 %). La digestibilidad de la materia orgánica mostró valores similares para los tres tratamientos ( $P>0.05$ ).

Cuadro 3.5. Digestibilidad de PC, FDA, FDN y MO en ovinos alimentados con 0, 8 y 16 % de pulpa de café

Tratamientos	PC (%)	FDA (%)	FDN (%)	MO (%)
T0	78.75 ± 1.52	49.60 ± 1.79 <sup>a</sup>	62.96 ± 3.07	72.81 ± 2.24
T1	76.06 ± 1.39	42.12 ± 1.63 <sup>b</sup>	57.60 ± 2.80	73.45 ± 2.05
T2	76.84 ± 1.52	42.24 ± 1.79 <sup>b</sup>	57.13 ± 3.07	73.93 ± 2.24

a,b: Letras distintas en la misma columna indican diferencias ( $P<0.05$ ).  
T0: Testigo, T1:8 % de pulpa de café y T2:16 % de pulpa de café.

### 3.5.5 pH, nitrógeno amoniacal y AGV's en líquido ruminal

Los valores de pH encontrados en el líquido ruminal no se modificaron por la inclusión de la pulpa de café, los promedios fueron 6.82, 6.70 y 6.79 para T0, T1 y T2 respectivamente, sin que se encontraran diferencias ( $P>0.05$ ) debido a la inclusión de pulpa de café en la dieta. La mayor concentración de nitrógeno amoniacal se observó para el tratamiento con 16 % de pulpa de café, seguido del testigo, el cual mostró un mayor promedio ( $P<0.05$ ) que el tratamiento con 8 % de pulpa de café (Cuadro 3.6).

En lo que respecta a la producción de ácidos grasos volátiles el tratamiento con 16 % mostró los valores más altos (39.70 mmol/L) de ácido acético ( $P<0.05$ ) que el tratamiento con 8 % de pulpa de café (23.25 mmol/L) y el testigo (25.8 mmol/L). El ácido propiónico mostró la misma tendencia que el ácido acético donde el tratamiento con 16 % (8.53 mmol/L) fue mayor ( $P<0.05$ ) que el tratamiento con 8 % de pulpa de café (4.44 mmol/L) y el testigo (5.49 mmol/L). El

promedio de ácido butírico fue mayor ( $P<0.05$ ) en el tratamiento con 16 % de pulpa de café (9.56 mmol/L) que para el de 8 % (3.98 mmol/L) y el testigo (5.02 mmol/L). Por lo tanto, los ácidos grasos volátiles totales siguieron la misma tendencia, donde el líquido ruminal de los ovinos alimentados con 16 % de pulpa de café (57.79 mmol/L) tuvieron una mayor cantidad de ácidos grasos volátiles totales que los ovinos alimentados con 8 % de pulpa de café (31.68 mmol/L) y el tratamiento testigo (36.33 mmol/L).

Cuadro 3.6. Nitrógeno amoniacal y ácidos grasos volátiles en líquido ruminal de ovinos alimentados con 0, 8 y 16 % de pulpa de café en la dieta

	TRATAMIENTOS		
	T0	T1	T2
pH	6.82 ± 0.13	6.70 ± 0.13	6.79 ± 0.13
Nitrógeno amoniacal mg/dL	17.49 ± 1.89 <sup>ab</sup>	13.88 ± 1.89 <sup>b</sup>	21.41 ± 1.89 <sup>a</sup>
Ácido acético(mmol/L)	25.80 ± 4.08 <sup>b</sup>	23.25 ± 4.08 <sup>b</sup>	39.70 ± 4.08 <sup>a</sup>
Ácido propiónico (mmol/L)	5.49 ± 0.9 <sup>ab</sup>	4.44 ± 0.9 <sup>b</sup>	8.53 ± 0.9 <sup>a</sup>
Ácido butírico (mmol/L)	5.02 ± 1.09 <sup>b</sup>	3.98 ± 1.09 <sup>b</sup>	9.56 ± 1.09 <sup>a</sup>
AGV's totales (mmol/L)	36.33 ± 5.97 <sup>b</sup>	31.68 ± 5.97 <sup>b</sup>	57.79 ± 5.97 <sup>a</sup>

a,b: Letras distintas en la misma hilera indican diferencias ( $P<0.05$ ).

T0: Testigo, T1:8 % de pulpa de café y T2:16 % de pulpa de café.

### 3.5.6 TBARS y FRAP

Al aumentar la inclusión de pulpa de café en las dietas, su capacidad antioxidante se incrementó, esta fue de 32 µg trolox/g MS para la dieta testigo, 37.58 µg trolox/g MS para la dieta con 8 % de pulpa de café y 40.25 µg trolox/g MS para la dieta con 16 % de pulpa de café (Cuadro 3.7). A pesar de que la pulpa de café incrementó la capacidad antioxidante de las dietas, no se observaron diferencias ( $P<0.05$ ) en la capacidad antioxidante del plasma de los ovinos



alimentados con pulpa de café al final de la engorda. Al inicio de la engorda previo al suministro de las dietas experimentales, la capacidad antioxidante fue más baja ( $P < 0.05$ ) comparada con los ovinos al final de la engorda. Esto demuestra que las tres dietas mejoraron la capacidad antioxidante del plasma de los ovinos. Para TBARS, el cual es un indicador de oxidación se encontró que no existieron diferencias ( $P > 0.05$ ) entre los animales al inicio de la engorda (4.22 nmol MDA/mL) y al final de la misma en el tratamiento testigo (4.49 nmol MDA/mL) y los alimentados con 8 % de pulpa de café (4.36 nmol MDA/mL); sin embargo, la inclusión de 16 % de pulpa de café en la dieta redujo los niveles de malondialdehído ( $P < 0.05$ ) a 3.55 nmol MDA/mL (Cuadro 3.8).

Cuadro 3.7. Capacidad antioxidante de las dietas suministradas a los ovinos en engorda

Dieta	FRAP ( $\mu\text{g}$ trolox/g MS)
T0	32.20
T1	37.58
T2	40.25

T0: Testigo, T1:8 % de pulpa de café y T2:16 % de pulpa de café.

Cuadro 3.8. Niveles de TBARS y FRAP en plasma en ovinos cruzas de Blackbelly alimentados con diferentes niveles de pulpa de café en la dieta

	FRAP (nmol trolox/mL)	MDA (nmol/mL)
Inicio de la engorda	190.26 ± 12.17 <sup>b</sup>	4.22 ± 0.30 <sup>a</sup>
T0	270.09 ± 12.17 <sup>a</sup>	4.49 ± 0.30 <sup>a</sup>
T1	274.39 ± 12.17 <sup>a</sup>	4.36 ± 0.30 <sup>a</sup>
T2	272.16 ± 12.17 <sup>a</sup>	3.55 ± 0.30 <sup>b</sup>

T0: testigo, T1: 8 % de pulpa de café en a dieta, T2: 16 % de pulpa de café en la dieta.

a,b: Letras distintas en la misma columna indican diferencias (P<0.05).

### 3.6 Discusión

#### 3.6.1 Área del ojo de la costilla y espesor de grasa dorsal

La medición del AOC y EGD es una herramienta útil, la cual ayuda a predecir las características de la canal *in vivo* (Stouffer, 1994). En ovinos es posible estimar el área del ojo de la costilla y el espesor de grasa *in vivo* por ultrasonografía, ya que existe una alta relación con las mediciones en la canal (Sahin *et al.*, 2008).

En borregos con pesos por arriba de 50 kg Poornahavandi y Zamiri (2008) observaron que la cafeína disminuye la cantidad de grasa en la canal, por lo que la tendencia a la disminución de grasa subcutánea tal vez hubiese sido significativa con pesos más altos de finalización o con niveles más altos de inclusión de pulpa de café. Se ha encontrado que la raza es un factor que influye en el EGD y el AOC, reportándose valores de 15.87 cm<sup>2</sup> de AOC y 3.62 mm de espesor de grasa para Dorper x Katahdin con pesos de 42.15 kg (Vázquez *et al.*, 2011). Estos valores difieren a los encontrados en el presente estudio, esto se debe a las diferencias de peso en que fueron finalizados los ovinos, ya que con pesos de 30 kg se reportan valores de 1.4 y 2.2 mm de

EGD, así como 9.0 y 10.4 cm<sup>2</sup> de AOC en St. Croix White y cruza de Dorper X St. Croix White, respectivamente (Godfrey y Weis, 2005).

### 3.6.2 Variables productivas

Diferentes trabajos se han realizado con pulpa de café la cual se obtiene en el procesado en húmedo del café, o con cáscara de café la cual se obtiene en el procesado en seco. Ferreira *et al.* (2000) al incluir 15.23 % de cáscara de café en la dieta no encontraron diferencias en el consumo de alimento y en la GDP de ovinos de cruza de Texel, Bergamacia y Santa Ines. Lima de Souza *et al.* (2004) tampoco encontraron que la cáscara de café a concentraciones del 10% de la dieta afectara el consumo alimenticio en ovinos. En toretes alimentados con una relación 60:40 de forraje:concentrado, se ha observado que la inclusión de 40 % de cascara de café en el concentrado disminuyó la ganancia de peso; mientras que la inclusión de 30 % de cascara de café en el concentrado no afectó la ganancia de peso y el consumo de alimento, por lo que se incrementó la relación beneficio costo (Ferreira *et al.*, 1997a). En un segundo experimento Ferreira *et al.* (1997b) determinaron que la inclusión de cascara de café al 20 % en el concentrado disminuyó la ganancia de peso, pero no afectó el consumo de concentrado; sin embargo, la inclusión de cascara de café al igual que en el primer experimento incrementó la relación beneficio costo. En toretes de 250 kg se ha suministrado 1.13 kg de cascara de café al día sin afectar las ganancias de peso ni la conversión alimenticia (Riberio *et al.*, 2000).

En cerdos en crecimiento se ha observado que la pulpa de café ensilada puede ser incluida en la dieta hasta en un 15 % sin causar efectos adversos en la ganancia diaria de peso y en el consumo de alimento, sin que se afecte la eficiencia alimenticia, mientras que para la etapa de engorda con un 10 % de inclusión se pueden tener resultados similares a las dietas testigo (Barrueta *et al.*, 2000). En la Tilapia del Nilo se ha observado que la pulpa de café fresca o ensilada no es un

producto adecuado para su alimentación ya que las ganancias de peso se ven drásticamente afectadas (Moreau *et al.*, 2003). Sin embargo, en otro tipo de peces como los alevines del híbrido Cachamay se ha empleado la pulpa de café hasta en un 18 % teniendo ganancias de peso y conversiones alimenticias mejores que las dietas testigo (Bautista *et al.*, 2005). De acuerdo a los resultados en el presente estudio podemos decir que es factible usar la pulpa de café ensilada con 5 % de melaza con los niveles evaluados de hasta 16 % sin que esto afecte la GDP, CA y consumo de alimento en engordas de ovinos, por lo que esto sería de gran beneficio en zonas cafetaleras donde este subproducto existe en abundancia.

La ganancia de peso encontrada en el presente estudio para ovinos cruza de Blackbelly son aceptables para esta raza, ya que Bores *et al.* (2002) reportaron ganancias de peso posdestete de 217, 219 y 222 g para crías de ovejas cruce de Pelibuey con Blackbelly y razas paternas de lana Dorset, Hampshire y Suffolk respectivamente, mientras que Pineda *et al.* (1998) reportaron ganancias de 182 g para ovinos Pelibuey, las cuales son similares a las del presente estudio.

La inclusión de pulpa de café incrementó el consumo de agua. Una probable explicación al incremento en el consumo de agua en ovinos alimentados con pulpa de café, es que la cafeína incrementa el consumo de agua y a dosis elevadas incrementa la excreción de orina. Esto se fundamenta con diversos estudios que se han realizado en humanos por ejemplo, Stookey (1999) menciona que al quitar el consumo de cafeína y alcohol en humanos el consumo de agua disminuye. Al respecto, Armstrong *et al.* (2005) reportaron que dosis de hasta 6 mg de cafeína por kilogramo de peso en humanos no afectó la osmolalidad en orina, color de orina, osmolalidad del suero de sodio y potasio y volumen de orina. Kovacs *et al.* (1998) tampoco encontraron efectos en diuresis por el consumo de hasta 4.5 mg de cafeína por kilogramo de peso. Sin embargo, Neuhäuser-Berthold *et al.* (1997) encontraron que dosis un poco más

elevadas, la cual fue de 642 mg de cafeína diaria en humanos incrementa la excreción de orina. En el presente estudio solo existió un aumento significativo ( $P < 0.05$ ) en el consumo de agua al incluir 16 % de pulpa de café en la dieta, por lo que se podría pensar que si hubiera habido pérdidas de agua a través de la orina, esto solo se podría dar a ciertos niveles de inclusión de pulpa de café en la dieta y que el animal estaría sustituyendo esas pérdidas aumentando el consumo de agua.

### **3.6.3 Digestibilidad *in vivo***

La digestibilidad de la FDA de las dietas con 8 y 16 % disminuyó; mientras que la PC y FDN mostró una tendencia similar. En otros estudios se ha encontrado que la cáscara de café proveniente del despulpado de café en seco se puede incluir hasta en un 10 % de la dieta total sin reducir la digestibilidad de la MS, materia orgánica (MO), PC, FDN, carbohidratos totales, carbohidratos no fibrosos y nutrientes totales (Lima de Souza *et al.*, 2004). Xu *et al.* (2007) al usar residuos de granos de café ensilados en una proporción de 0, 10 y 20 % del total del ensilado para alimentar ovinos observaron que al incrementarse la inclusión de residuos de grano de café disminuyó la digestibilidad de la materia seca, proteína cruda, FDN y FDA. Los autores atribuyeron la disminución de la digestibilidad de la proteína a que el nitrógeno se unió al residuo de FDA, en el calentamiento del procesado del grano de café, reduciendo con esto su digestibilidad.

La menor digestibilidad de la FDA en la dieta con 16 % de pulpa de café pudo deberse a los polifenoles presentes en la pulpa de café, ya que se ha demostrado que estos reducen la digestión de la fibra por formar complejos con la lignocelulosa y disminuir la digestión microbiana o por inhibir directamente a los microorganismos celulolíticos (McSweeney *et al.*, 2001).

### 3.6.4 pH, nitrógeno amoniacal y AGV's en líquido ruminal

La pulpa de café no modificó el pH ruminal. En vacas Holstein alimentadas con 40 % de concentrado en la dieta, el cual contenía 25 % de cáscara de café, se observó que no se modificó el pH ruminal, medido a las 3 horas después de ofrecido el alimento (Soares *et al.*, 2007). Monteiro *et al.* (2007) tampoco encontraron que la cáscara de café proporcionada a niveles de 0, 7, 14 y 21 % de la materia seca total afectara el pH ruminal; lo cual concuerda con los resultados del presente estudio. A diferencia de Soares *et al.* (2007) donde la cáscara de café no modificó la concentración de nitrógeno amoniacal, en el presente estudio se observó una menor concentración de nitrógeno amoniacal al incluir 8 % de pulpa de café con respecto a la inclusión de 16 %.

El ácido acético representó el 71.01 % de los AGV's totales en los ovinos alimentados con la dieta testigo, el 73.39 % en la dieta con 8 % de pulpa de café y el 68 % en la dieta con 16 % de pulpa de café. El gran porcentaje de ácido acético producido indica que las dietas tuvieron gran cantidad de carbohidratos estructurales (Dijkstra, 1994). Esta puede ser una de las razones por la que se tuvo un pH óptimo, ya que los carbohidratos no estructurales modifican la fermentación reduciendo el pH ruminal, al encontrarse mayor cantidad de ácidos grasos volátiles totales en el líquido ruminal de ovinos que consumieron 16 % de pulpa de café en la dieta, es un indicador de una mayor disponibilidad de energía, esto podría explicar el aumento en los parámetros productivos con la inclusión de la pulpa de café.

### 3.6.5 TBARS y FRAP

Al aumentar la inclusión de pulpa de café en las dietas se incrementó la capacidad antioxidante. A pesar que gran parte de la pulpa de café fue sustituida por el residuo de alfalfa. La alfalfa es

un forraje con gran capacidad antioxidante (Cao *et al.*, 1996) a pesar de esto, se logró una mayor capacidad antioxidante en las dietas al sustituir la pulpa de café por el residuo de alfalfa, por lo que además de contener valores nutricionales aceptables, la inclusión de la pulpa de café en la dieta aumentó la capacidad antioxidante de estas.

De acuerdo a la concentración de trolox encontradas en las dietas con inclusión de pulpa de café, esta representaría una buena alternativa como antioxidante en dietas con pobre actividad antioxidante. Al haber una mayor cantidad de FRAP en el plasma de ovinos de los tres tratamientos con respecto a los ovinos al inicio de la engorda, sugiere que tanto la pulpa de café como el residuo de alfalfa durante la engorda aumentaron la capacidad antioxidante de los ovinos. La disminución de los niveles de MDA al incluir 16 % de pulpa de café en la dieta indica que los animales estuvieron expuestos en menor grado al estrés oxidativo, por lo tanto la pulpa de café mostró ser un subproducto adecuado para reducir el estrés oxidativo en corderos en engorda. Estos resultados difieren de los obtenidos por Po *et al.* (2012) quienes encontraron que la Yerba Mate (*Ilex paraguarensis*), una planta con alto contenido de polifenoles y que contiene propiedades antioxidantes, suplementada al 2.5 % de la dieta en ovinos en crecimiento no incrementó la capacidad total antioxidante de los ovinos (Po *et al.*, 2012). Zhou *et al.* (2012) al evaluar diferentes concentraciones de extractos de hoja de té verde (*Ilex kudingcha* C. J. Tseng), que han mostrado disminuir la oxidación lipídica no encontraron diferencias en la concentración de MDA, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en plasma de cabras.

La disminución de la concentración de malondialdehído en plasma de ovinos cuya dieta contenía 16 % de pulpa de café, puede deberse a las concentración de ácidos fenólicos de la pulpa de café, ya que en el presente experimento se encontraron los ácidos clorogénico, cafeico y gálico. Se ha encontrado que el ácido cafeico es un antioxidante captador de radicales libres (Gülçin,

2006), así como el ácido clorogénico y el ácido gálico, los cuales han mostrado tener alta capacidad antioxidante (Marinova *et al.*, 2009, Yen *et al.*, 2002). En un estudio en ovinos para determinar la capacidad antioxidante de cuatro plantas ricas en polifenoles en animales sometidos a lipoperoxidación, se encontró que el proceso de digestión no inhibe sus propiedades antioxidantes (Gladine *et al.*, 2007). Esto ayuda a entender porque los ovinos alimentados con 16 % de pulpa de café mostraron tener un menor grado de oxidación en plasma sanguíneo al final del experimento.

### **3.7 Conclusiones**

La pulpa de café al mayor nivel evaluado de 16 %, no afectó la ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y pH ruminal, mientras que su inclusión incrementó la capacidad antioxidante de las dietas y la producción de ácidos grasos volátiles en el rumen. La pulpa de café es un subproducto con propiedades nutricionales aptas para la inclusión en dietas para ovinos; además de ayudar a reducir la oxidación, lo que podría tener grandes ventajas en retardar la oxidación de la carne proveniente de los animales que consumen pulpa de café y también protegerlos de estados de estrés oxidativo.

### **3.8 Literatura citada**

AOAC., 1990. Official Methods of Analysis.15th Ed. Association of Official Analytical Chemist. Washington, D. C. 1298 p.

Armstrong, L. E., Pumerantz, A. C., Roti, M. W., Judelson, D. A., Dias, J. C., Sökmen, B., Casa, D. J., Maresh, C. M., Lieberman, H., Kellogg, M. 2005. Fluid, electrolyte, and renal indices of hydration during 11 days of controlled caffeine consumption. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 15:252-265.



- Barrueta, D. E., Bautista, E. O., Acevedo, L. 2000. Pulpa de café ensilada en dietas para cerdos en crecimiento y engorde. *Revista Facultad de Ciencias Veterinarias*, 41 (4):85-90.
- Bautista, E. O., Pernia, J., Barrueta, D., Useche, M. 2005. Pulpa ecológica de café ensilada en la alimentación de alevines del híbrido Cachamay (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomus*). *Revista Científica Universidad de Zulia*, 15 (001):33-40.
- Benzie, I. F., Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239:70–76.
- Bores, Q. R., Velázquez, M. P., Heredia, A. M. 2002. Evaluación de razas terminales en esquemas de cruce comercial con ovejas de pelo F1. *Técnica Pecuaria en México*, 40(1):71-79.
- Cao, G., Sofic, E., Prior, R. L. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 44 (11):3426-3431.
- Dijkstra, J. 1994. Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. *Livestock Production Science*, 39:61-69.
- Erwin, E. S., Marco, G. J., Emery, E. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*, 44:1768-1771.
- Ferreira, I., Olalquiaga, J., Teixeira, J., Pacheco, C. 2000. Desempenho de cordeiros Texel x Bergamácia, Texel x Santa Inês e Santa Inês puros, terminados em confinamento, alimentados com casca de café como parte da dieta. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29 (2):564-572.
- Ferreira, B. A., Aguilar, A. P., Pérez, O. J., Dos Santos, V. B., Maciel, C. R. 2001. Factores antinutricionais da casca e da polpa desidratada de café (*Coffea arabica* L.) armazenadas em diferentes períodos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30 (4):1325-1331.
- Ferreira, B. D., Andrade, I.V., Von Tiesenhausen, I., Ferrira, J. J., De Souza, S. R., Hermeto, B. C., Amari, R., Aguilar, P. P. 1997a. Aproveitamiento da casca de café na alimentacao de novilhos confinados-resultados do primeiro ano. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 26 (6):1215-1221.
- Ferreira, B. D., Andrade, I.V., Von Tiesenhausen, I., Ferreira, J.J., De Souza, S. R., Hermeto, B. C., Amarai, R., Aguilar P. P. Aguilar. 1997b. Aproveitamiento da casca de café na alimentacao de novilhos confinados-resultados do segundo ano. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 26 (6):1208-1214.
- Gladine, C., Rock, E., Morand, C. 2007. Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition*, 98:691–701.

- Godfrey, R. W., Weis, A. J., 2005. Post-weaning growth and carcass traits of St. Croix White and Dorper X St. Croix White lambs fed a concentrate diet in the U.S. Virgin Islands. *Sheep & Goat Research Journal*, 20:32-36.
- Gülçin, I. 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology*. 217:213-220.
- Harris, L. E. 1970. Nutrition research techniques for domestic animals and wild animals, vol 1. Logan, Utah USA.
- ICO., International Coffee Organization. 2010. Informe sobre el mercado del café. Mayo 2010. <http://dev.ico.org/documents/cmr-0511-c.pdf>
- Insani, E. M., Eyherabide, A., Grigoni, G., Sancho, A. M., Pensel, N. A., Pensel, Descalzo, A. M. 2008. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated retail display of beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79 (3):444-452.
- Kovacs, E. M. R., Stegen, H. V. H., Bronus, F. 1998. Effect of caffeinated drinks on substrate metabolism, caffeine excretion, and performance. *Journal of Applied Physiology*, 85:709-715.
- Lima de Souza, A., Garcia, R., Salgado, B. F., Cipriano, R. F., Valadares, F. S., Gomes, P. O., Vierira, P. A. 2004. Casca de café em dietas de carneiros: consumo e digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33 (6):2170-2176.
- Marinova, E., Toneva, A., Yanisljeva N. 2009. Comparison of the antioxidative properties of caffeic and chlorogenic acids. *Food Chemistry*, 114:1498-1502.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. *Clinica Chimica Acta*, 17:297-304.
- McSweeney, C. S., Palmer, B., McNeill, D. M., Krause, D. O. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91:83-93.
- Mercier, Y., Gatellier, P., Renner, M. 2004. Lipid and protein oxidation *in vitro*, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Science*, 66 (2):467-473.
- Monteiro, A. T. R., Souza C. J. M., Valadares F. S. C., Ferreira D. V. R., Soares, O. A., Santos P. D. 2007. Balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana em novilhas leiteiras alimentadas com casca de café em substituição à silagem de milho. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36 (5):1691-1698.
- Moreau, Y. J., Aredondo L., Perraund-GaimeI., Roussos S. 2003. Dietary utilisation of protein and energy from fresh and ensiled coffee pulp by the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Brazilian archives of biology and technology*, 46 (2):223-231.

- Neuhäuser-Berthold, M., Beine, S., Verwied S. C., Lührmann, P. M. 1997. Coffee consumption and total body water homeostasis as measured by fluid balance and bioelectrical impedance analysis. *Annals Nutrition and Metabolism*, 41:29–36.
- Noriega, S. A., Silva, A. R., García, S. M. 2009. Composición química de la pulpa de café a diferentes tiempos de ensilaje para su uso potencial en la alimentación animal. *Zootecnia Tropical*, 27 (2):135-141.
- NRC, National Research Council. 1985. *Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Sheep. Sixth Revised Edition*, National Academy of Sciences, Washington, D.C. USA.
- Ohkawa, H., Ohishi N., Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analital Biochemistry*, 95:351-358.
- Pineda, J., Palma, J. M., Haenlein, G. F., Galina M. A. 1998. Fattening of Pelibuey hair sheep and crossbreds (Rambouillet-Dorset×Pelibuey) in the Mexican tropics. *Small Ruminant Research*, 27 (3):263-266.
- Po, E., Horsburgh, K., Raadsma, H. W., Celi, P. 2012. Yerba Mate (*Ilex paraguarensis*) as a novel feed supplement for growing lambs. *Small Ruminant Research*, 106:131– 136.
- Poornahavandi, H. R., Zamiri, M. J. 2008. Effects of ephedrine and its combination with caffeine on body composition and blood attributes of fat-tailed Mehraban lambs. *Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University*, 9 (1):51-58.
- Ramírez-Coronel, M. A., Marnet, N., Kumar-Kolli, V. S., Roussos, S., Guyot, S., Augur, C., 2004. Characterization and estimation of proanthocyanidins and other phenolics in coffee pulp (*Coffea arabica*) by thiolysis-high-performance liquid chromatography. *Journal Agricultural Food and Chemistry*, 52:1344–1349.
- Ribeiro, F. E., Aguiar, P. P., Ferreira, B. A., Pereira, R. C., Maciel, C. R., Lucia B. V., 2000. Efeito da casca de café (*Coffea arabica*, L.) no desempenho de novilhos mestiços de holandês-zebuna fase de recría. *Ciencia e Agrotecnología (Brasil)*, 24 (1):225-232.
- Sahin, E. H., Yardimci, M., Cetingul, I. S., Bayram, I., Sengor, E. 2008. The use of ultrasound to predict the carcass composition of live Akkaraman lambs. *Meat Science*, 79:716–721.
- SAS, Statistical Analysis System. 2002. *SAS Proceeding Guide, versión 9*. SAS Institute. Cary NC. USA.
- Soares, O. A., Souza, C. J., Valadares, F. S., Jorge, A. A., Araújo, T. R., Navajas, R. L., Do santos, P. D., Soares, O. G. 2007. Substituição do milho pela casca de café ou de soja em dietas para vacas leiteiras: comportamento ingestivo, concentração de nitrogênio uréico no plasma e no leite, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana<sup>1</sup>. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36 (1):205-215.

- Sroka, Z., Cisowski W. 2003. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41:753-758.
- Stookey, J. D. 1999. The diuretic effects of alcohol and caffeine and total water intake misclassification. *European Journal of Epidemiology*, 15:181-188.
- Stouffer, J. R. 1994. History of Ultrasound in Animal Science. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 23 (5):577-584.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral fiber and no starch polysaccharides in relation to nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.
- Vázquez, S. E., Partida, P. J., Rubio, L. M., Méndez, M. D. 2011. Comportamiento productivo y características de la canal en corderos provenientes de la cruce de ovejas Katahdin con machos de cuatro razas cárnicas especializadas. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 2 (3):247-258.
- Xu., C. C., Cai, Y., Zhang, J. G., Ogawa, M., 2007. Fermentation quality and nutritive value of a total mixed ration silage containing coffee grounds at ten or twenty percent of dry matter. *Journal of Animal Science*, 85:1024-1029.
- Yen, G.C., Duh, P.D., Tsai, H. L. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, 79:307-313.
- Zhou, C. S., Xiao, W. J., Tan, Z. L., Salem, Z. M., Geng, M. M., Tang, S. X., Wang, M., Han, X. F., Kang, J. H. 2012. Effects of dietary supplementation of tea saponins (*Ilex kudingcha* C.J.Tseng) on ruminal fermentation, digestibility and plasma antioxidant parameters in goats. *Animal Feed Science and Technology*, 176:163–169.

#### IV. CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL, CAMBIOS FÍSICO-QUÍMICOS E INDICADORES DE OXIDACIÓN DE LA CARNE DE OVINOS ALIMENTADOS CON PULPA DE CAFÉ

##### 4.1 Resumen

La pulpa de café ha sido utilizada en la alimentación animal a diferentes porcentajes de concentración en la dieta para evaluar las variables productivas, aunque no está determinada su influencia en la evaluación de la canal. El objetivo fue determinar el efecto de la inclusión de pulpa de café en la dieta de ovinos en las características de la canal, cambios físico-químicos e indicadores de oxidación. Se experimentó con 15 corderos cruza de Blackbelly, con un peso inicial de  $22.86 \pm 0.54$  kg y una edad promedio de 6 meses, asignados a tres tratamientos. T0: dieta testigo, T1: dieta con 8 % de pulpa de café y T2: dieta con 16 % de pulpa de café. Después de 56 días de engorda los ovinos fueron sacrificados y la canal fue evaluada. Se encontró que la inclusión de 16 % de pulpa de café en la dieta incrementó ( $P < 0.05$ ) de 47.53 a 49.50 % el rendimiento de la canal caliente y disminuyó la grasa de rumen e intestinos de 3.43 a 2.53 %. No se observó que la inclusión de pulpa de café en la dieta modificara la cantidad de proteína y grasa de la carne; así como la oxidación y la capacidad antioxidante a través del tiempo de vida de anaquel. La inclusión de pulpa de café en la dieta disminuyó la grasa de rumen e intestinos y con ello se incrementó la cantidad de carne consumible.

**Palabras clave:** *antioxidante, engorda, grasa, vida de anaquel.*

## 4.2 Abstract

The objective of this study was to determine how feeding sheep coffee pulp affects carcass characteristics and what changes occur in physicochemical, antioxidant capacity and oxidation of the meat during refrigerated storage. The experiment was carried out with 15 Blackbelly lambs weighing an average  $22.86 \pm 0.76$  kg. The animals were assigned to three treatments: T0: control diet, T1: diet with 8 % coffee pulp and T2: diet with 16 % coffee pulp. After fattening for 56 days, the sheep were slaughtered and the carcasses assessed. Inclusion of 16 % coffee pulp in the diet increased carcass dressing from 48.19 to 50.83 % and decreased the amount of fat in rumen and intestines from 3.43 to 2.53 % ( $P < 0.05$ ). The inclusion of coffee pulp in the diet did not alter the amount of crude protein or fat in meat or its oxidation and antioxidant capacity during refrigerated storage. However, inclusion of coffee pulp in the diet decrease fat in the rumen and intestines, and thus increased the amount of usable meat.

**Key words:** *antioxidant, carcass, dressing percent, fat.*

## 4.3 Introducción

La oxidación produce cambios en las características físico-químicas de la carne. Estos cambios son determinantes para la aceptación del consumidor. Se ha comprobado que la carne de animales engordados con dietas con concentrados tienen una más acelerada oxidación que animales consumiendo forraje (Santé-Lhoutellier *et al.*, 2008; Luciano *et al.*, 2013), aunque la alimentación con concentrado mejora las ganancias de peso (Mushi *et al.*, 2009). Para obtener altos rendimientos productivos, retardar la oxidación y conservar el color de la carne se han empleado diferentes tipos de antioxidantes; entre ellos el más empleado es la vitamina E, la cual

ha sido ampliamente estudiada con el fin de estabilizar la coloración roja de la carne y retardar la oxidación (Wood y Enser, 1997; Eikelinboom *et al.*, 2000; Macit *et al.*, 2003). Aunque los antioxidantes sintéticos han mostrado resultados satisfactorios, la tendencia del consumidor es adquirir productos más saludables, por lo que recientemente se han evaluado plantas ricas en antioxidantes en la alimentación animal con el fin de incrementar la vida de anaquel de la carne (Luciano *et al.*, 2009; Karami *et al.*, 2010; Smeti *et al.*, 2013). Sin embargo, la disponibilidad de dichas plantas podría ser la limitante para algunas áreas geográficas, por lo que se hace necesario evaluar diferentes plantas o subproductos agrícolas con propiedades antioxidantes, las cuales pudieran estar disponibles en diferentes áreas. La pulpa de café es un subproducto altamente disponible en zonas cafetaleras, ya que México ocupa el séptimo lugar a nivel mundial en el volumen producido (ICO, 2010). A este subproducto se le han encontrado compuestos fenólicos (Ramirez-Coronel *et al.*, 2004) que han mostrado ser potentes antioxidantes (Sroka y Cisowski, 2003). La pulpa de café contiene cantidades significativas de cafeína (Ferreira *et al.*, 2001), la cual reduce la concentración de grasa interna y grasa de la carne (Poornahavandi y Zamiri, 2008), por lo que además de incrementar la vida de anaquel podría reducir la cantidad de grasa en la canal. Debido a esto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la inclusión de la pulpa de café en la dieta de ovinos en las características de la canal, cambios fisicoquímicos e indicadores de oxidación.

#### **4.4 Materiales y métodos**

##### **4.4.1 Ensilaje y análisis de la pulpa de café**

La pulpa de café (*Coffea arabica*) fue ensilada con 5% de melaza, fermentada por dos meses y deshidratada al sol. Se le determinó materia seca (MS), proteína cruda (PC) y cenizas totales

mediante la técnica [AOAC \(1990\)](#); fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA) y lignina mediante la técnica de [Van Soest et al. \(1991\)](#). Para la determinación de los compuestos antioxidantes y la cafeína presentes en la pulpa de café se diluyó un gramo de pulpa de café en 5 mL de H<sub>2</sub>O. Este extracto se centrifugó a 5,000 rpm por 10 min. Para la cuantificación de los antioxidantes presentes en la pulpa de café, el sobrenadante se inyectó en un cromatógrafo de líquidos (marca Aglyen Technologies modelo 1100), equipado con un arreglo de diodos e inyector automático (marca Aglyen Technologies modelo 1200). La columna que se utilizó fue una Nucleosil 100 A (125 x 4.00 mm de tamaño de partícula). Se utilizó metanol en A y 5 % de ácido fórmico en H<sub>2</sub>O en B. La velocidad de flujo fue de 1.50 mL por minuto a una temperatura de 25 °C, inyectando 20 µL de muestra y leyendo a 280 nm. La curva estándar se construyó con antioxidantes como el ácido gálico, clorogénico, siríngico, vainillínico, 2-5-di-hidroxibenzoico, cafeico, p-hidroxibenzoico, 2-3-di-hidroxibenzoico, ferúlico y p-coumárico (marca Sigma).

La cafeína se cuantificó mediante un análisis isocrático utilizando agua y acetonitrilo grado HPLC en una proporción 75:25. Se inyectó 10 µL de la muestra a una velocidad de flujo de 0.80 mL por minuto, temperatura de 25 °C y lectura a 273 nm. La curva estándar se realizó utilizando como estándar cafeína (marca Merck).

Para medir la capacidad antioxidante de las dietas, se realizó la extracción de los antioxidantes de acuerdo a la técnica descrita por [Restrepo et al. \(2009\)](#), para esto se pesó 0.50 g de pulpa de café, se hizo un lavado con 10.00 mL de metanol-agua (50-50) y acidificó con HCl 2N a un pH de 2.00. Posteriormente se agitó durante 1 hora a 37 °C y se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos a 4 °C. Se recolectó el sobrenadante y el residuo se trató con una mezcla de acetona-agua (70-30), se agitó y se centrifugó de igual manera que en la primera dilución. Este segundo



sobrenadante se recolectó y se mezcló con el primero, posteriormente se determinó la capacidad antioxidante por la técnica FRAP (Benzie y Strain, 1999).

#### **4.4.2 Animales**

Se utilizaron 15 corderos de pelo cruza de Blackbelly con peso inicial de  $22.86 \pm 0.602$  kg y con una edad promedio de 6 meses, los cuales fueron divididos en tres tratamientos. T0: dieta testigo (n=5), T1: dieta con 8% de pulpa de café (n=5) y T2: dieta con 16% de pulpa de café (n=5) (Cuadro 1). Los ovinos tuvieron un periodo de adaptación a las dietas de 12 días, para posteriormente tenerlos en un periodo de alimentación de 56 días, al final de la engorda los ovinos fueron sacrificados previo ayuno de 12 horas y sin restricción de agua a un peso promedio de  $32.76 \pm 0.92$ ,  $33.06 \pm 0.92$  y  $33.18 \pm 0.92$  kg para T0, T1 y T2, respectivamente.

#### **4.4.3 Evaluación de la canal y composición química**

Se determinó el rendimiento de la canal caliente dividiendo el peso de la canal al sacrificio entre el peso vivo. El rendimiento de la canal fría se determinó dividiendo el peso de la canal 24 h después del sacrificio entre el peso vivo; y el rendimiento verdadero dividiendo el peso de la canal al sacrificio entre el peso vivo, descontándole el contenido gastrointestinal de rumen e intestinos. Se determinó la cantidad de grasa de rumen, intestinos y riñones. Los pesajes de las piezas se realizaron en una báscula Torrey (modelo LPCR). Veinticuatro horas posteriores al sacrificio se midió el pH en el músculo *Longissimus dorsi* entre la doceava y la treceava costilla con un potenciómetro (Thermo scientific, modelo Orion 3 star), con electrodo para productos cárnicos. En la misma localización anatómica se le realizó la medición del área del ojo de la costilla (AOC) con una cuadrícula de puntos, de la cual cada punto correspondió a  $0.25 \text{ cm}^2$ . El *Longissimus dorsi* se dividió en dos fragmentos.

El primero sirvió para determinar humedad, proteína cruda, grasa y cenizas mediante la técnica [AOAC \(1990\)](#).

#### **4.4.4 Evaluación del color**

El segundo fragmento de carne se almacenó a temperatura de refrigeración (5 °C) y se midió por colorimetría desde el primer día de vida de anaquel y cada tercer día hasta el día 19, luminosidad (L\*), intensidad de rojo a verde (a\*) e intensidad de amarillo a azul (b\*). Para esto se utilizó un colorímetro (marca Konica Minolta, modelo CM-700D).

#### **4.4.5 Estado oxidativo de la carne**

En cada muestreo para la evaluación de color se tomó por duplicado una muestra aproximada de 10 gramos y se almacenó en tubos de criostato y se depositaron en nitrógeno líquido a -196° C hasta su análisis.

Previo al análisis del estado oxidativo de la carne se realizó un homogenizado de la muestra, el cual consistió en agregarle 10 mL de Ringer Krebs y se molió. El homogenado se filtró y se centrifugó a 4,000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se recolectó y fue usado para la determinación del estado oxidativo. La capacidad antioxidante se midió usando la técnica FRAP (poder antioxidante de reducción férrica) de [Benzie y Strain \(1999\)](#); y el análisis TBARS (Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico) de acuerdo la técnica descrita por [Ohkawa et al. \(1979\)](#), los datos se reportaron por mg de proteína por lo que la determinación de esta se realizó con el método de [Bradford \(1976\)](#), para los análisis se utilizó un espectrofotómetro UV-V15 (marca Thermo Scientific).

#### 4.4.6 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con 3 tratamientos. Para las variables de la evaluación de la canal, se realizó un análisis de varianza, utilizándose el peso al sacrificio de los corderos como covariable, y cuando fue detectada alguna significancia  $P < 0.05$  se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey con el paquete estadístico SAS versión 9 (2002). Para la evaluación del color y estado oxidativo de la carne se realizó un análisis de varianza utilizándose el modelo estadístico  $Y_{ijk} = \mu + T_i + M_j + T_iM_j + A_{k(i)} + E_{ijk}$ . Donde:

$Y_{ijk}$  = Respuesta del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo muestreo de la k-ésima repetición,  $\mu$  = Media general,  $T_i$  = Efecto del i-ésimo tratamiento,  $M_j$  = Efecto del j-ésimo muestreo,  $T_iM_j$  = Efecto del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo muestreo,  $A_{k(i)}$  = Efecto del i-ésimo tratamiento anidado al k-ésimo animal y  $E_{ijk}$  = Error experimental.

#### 4.5 Resultados

La composición de las dietas y su capacidad antioxidante se muestra en el cuadro 4.1. Se observa que en al incrementarse la inclusión de pulpa de café en la dieta, su capacidad antioxidante también se incrementó.

La pulpa de café además de contener los valores nutricionales mostrados en el cuadro 4.2 contiene 0.50 % de cafeína, 5.61 % de ácido clorogénico, 1.47 % de ácido cafeico y 0.26 % de ácido gálico.

Cuadro 4.1. Ingredientes y composición química de las dietas para engorda de ovinos

<b>Ingrediente (%)</b>	<b>TRATAMIENTOS</b>		
	T0	T1	T2
Residuo de alfalfa	57.57	48.53	39.50
Sorgo grano molido	25.24	22.76	21.20
Pasta de soya	14.18	17.69	20.20
Melaza	2.00	2.00	2.00
Premezcla de minerales	1.00	1.00	1.00
Pulpa de café ensilada	0.00	8.00	16.00
<b>Capacidad antioxidante</b>			
FRAP ( $\mu\text{g}$ trolox/g MS)	32.20	37.58	40.25

T0: testigo, T1: Dieta con 8 % de pulpa de café, T2: Dieta con 16 % de pulpa de café en la dieta.

Cuadro 4.2. Composición química y de antioxidantes en base seca de la pulpa de café ensilada con 5 % de melaza

<b>Compuesto</b>	
MS (%)	86.57
Cenizas (%)	14.47
PC (%)	11.16
FDN (%)	51.95
FDA (%)	43.93
Lignina (%)	13.36
Cafeína (%)	0.50
Ácido clorogénico (%)	5.61
Ácido cafeíco (%)	1.47
Ácido gálico (%)	0.26

MS: Materia seca, PC: Proteína cruda, FDN: Fibra detergente neutra, FDA: Fibra detergente ácida

#### **4.5.1 Evaluación de la canal y composición química**

El rendimiento de canal caliente fue de 48.19, 50.30 y 50.83 % para T0, T1 y T2, respectivamente, se observó que a medida que se va incrementando la inclusión de pulpa de café en la dieta el rendimiento de canal caliente se incrementa. Se observó que la inclusión de 16 % de pulpa de café en la dieta incrementó ( $P<0.05$ ) el rendimiento de canal caliente. El rendimiento de canal fría siguió la misma tendencia que el rendimiento de la canal caliente, donde la inclusión de 16 % de pulpa de café tuvo un mayor rendimiento (49.50 %) que en el tratamiento testigo (47.53 %). El rendimiento de canal verdadero se incrementó ( $P<0.05$ ) al incluir 8 (57.53 %) y 16 % de pulpa de café (57.05 %) con respecto al testigo (54.95 %; Cuadro 4.3). Los promedios de grasa de rumen e intestinos entre el tratamiento testigo y el tratamiento con 8 % de pulpa de café se comportaron de forma similar ( $p>0.05$ ); no obstante, se observó una tendencia solo numérica, a disminuir con la inclusión de 8 % de pulpa de café. La inclusión de 16 % de pulpa de café en la dieta logró disminuir de 3.43 a 2.53 % la grasa de rumen e intestinos con respecto al peso vivo. Los promedios de grasa de riñón, el pH medido a las 24 de vida de anaquel y el AOC no se vieron ( $P>0.05$ ) modificados por efecto de la inclusión de pulpa de café en la dieta de ovinos (Cuadro 4.3).

Cuadro 4.3. Rendimientos de canal, grasa visceral y área del ojo de la costilla de ovinos Blackbelly alimentados con diferentes niveles de pulpa de café en la dieta

<b>Característica (%)</b>	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
Rendimiento canal caliente	48.19 ± 0.60 <sup>b</sup>	50.30 ± 0.60 <sup>ab</sup>	50.83 ± 0.60 <sup>a</sup>
Rendimiento canal fría	47.53 ± 0.45 <sup>b</sup>	48.83 ± 0.45 <sup>ab</sup>	49.50 ± 0.45 <sup>a</sup>
Rendimiento verdadero	54.95 ± 0.62 <sup>b</sup>	57.53 ± 0.62 <sup>a</sup>	57.05 ± 0.62 <sup>a</sup>
Grasa de rumen e intestinos	3.43 ± 0.18 <sup>a</sup>	2.95 ± 0.18 <sup>ab</sup>	2.53 ± 0.18 <sup>b</sup>
Grasa de riñón	0.76 ± 0.12	0.84 ± 0.12	0.73 ± 0.12
pH *	5.75 ± 0.05	5.75 ± 0.05	5.80 ± 0.05
Área del ojo de la costilla	10.74 ± 0.48	10.38 ± 0.46	11.55 ± 0.46

T0: testigo, T1: Dieta con 8 % de pulpa de café, T2: Dieta con 16 % de pulpa de café en la dieta.

\* pH medido 24 h *post-mortem*

Letras diferentes a y b en la misma fila indican diferencia (P<0.05).

El porcentaje de humedad, grasa, proteína y cenizas de la carne de los ovinos no varió (P>0.05) por efecto de la inclusión de la pulpa de café en la dieta (Cuadro 4.4).

Cuadro 4.4. Composición química de la carne de ovinos Blackbelly medida en el *Longissimus dorsi* alimentados con 0, 8 y 16 % de pulpa de café en la dieta

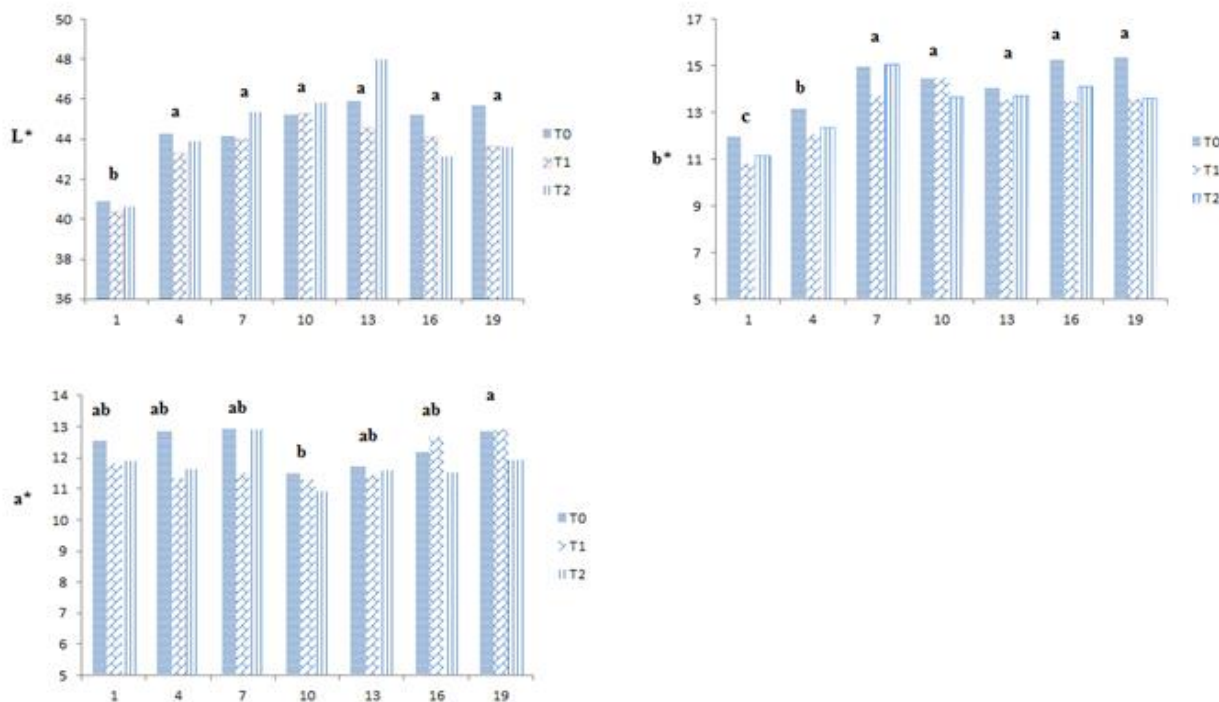
	<b>T0</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>
Humedad (%)	71.37 ± 1.47	72.68 ± 1.46	71.78 ± 1.45
Grasa (%)	5.97 ± 0.54	5.57 ± 0.53	5.82 ± 0.3
Proteína (%)	19.50 ± 0.52	18.73 ± 0.52	19.34 ± 0.51
Cenizas (%)	2.36 ± 0.34	2.40 ± 0.34	2.44 ± 0.34

T0: testigo, T1: Dieta con 8 % de pulpa de café, T2: Dieta con 16 % de pulpa de café en la dieta.

#### 4.5.2 Evaluación del color

Los valores de  $L^*$  y  $a^*$  no se modificaron por efecto de tratamiento ( $p>0.05$ ); sin embargo, se observó que la pulpa de café ocasionó un decremento ( $P<0.05$ ) de los valores de  $b^*$  (13.12) con inclusión de 8 (13.12) y 16 % de pulpa de café (13.38), con respecto al testigo (14.19). Los valores de  $L^*$  se modificaron por efecto del tiempo de vida de anaquel.

Estos fueron más bajos para el primer día ( $P>0.05$ ); sin embargo, ya no se observaron diferencias ( $P>0.05$ ) los días 4, 7, 10, 13, 16 y 19 de vida de aquel. Los valores de  $a^*$  mostraron cambios en la vida de aquel a través del tiempo, estos fueron más bajos ( $P<0.05$ ) en el día 10 comparado con el día 19, no encontrándose diferencias con los demás días ( $P>0.05$ ). Con respecto a los valores de  $b^*$  estos se fueron incrementando desde el primer día de vida de anaquel hasta el día 7 donde se encontraron los valores máximos, no observándose más cambios en los días 10, 13, 16 y 19 (Figura 4.1).



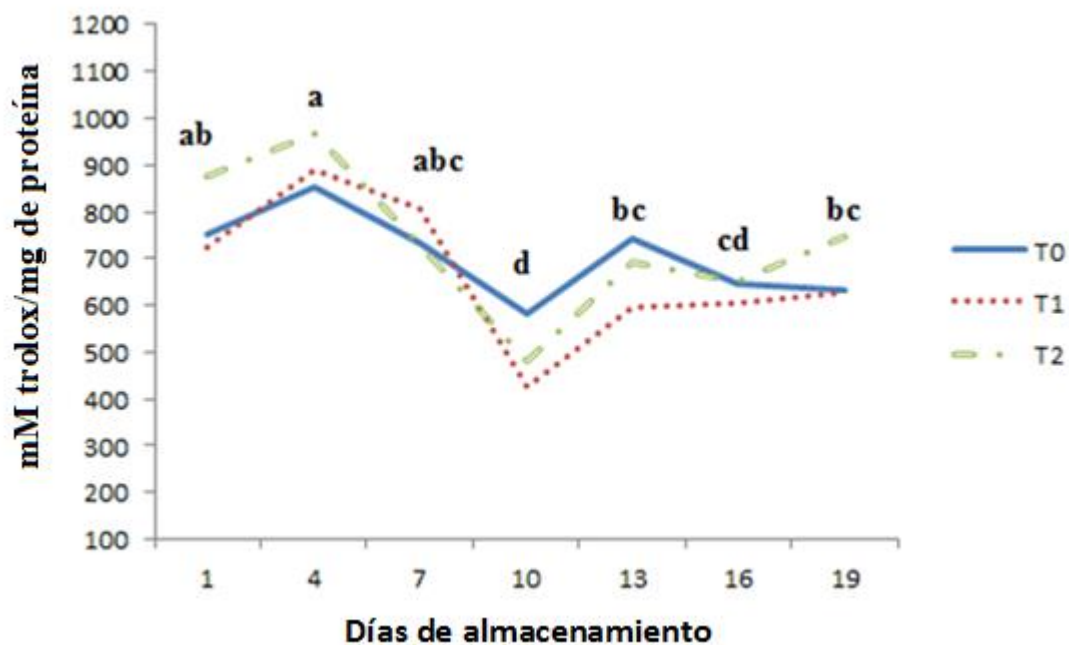
T0: testigo, T1: dieta con 8 % de pulpa de café, T2: dieta con 16 % de pulpa de café en la dieta.

Figura 4.1. Cambios de luminosidad (L\*), intensidad de rojo (a\*) e intensidad de amarillo (b\*) a través del tiempo de vida de anaquel en carne de ovinos alimentado con pulpa de café.

### 4.5.3 Estado oxidativo

La capacidad antioxidante medida por la técnica FRAP e interpretada como trolox/mg de proteína de la carne, no se modificó ( $P > 0.05$ ) por efecto de tratamiento. Sin embargo, se observó que la concentración de trolox se modificó por efecto del tiempo de vida de anaquel (Figura 4.2). La capacidad antioxidante tuvo un ligero incremento del día 1 (784.99 nmol trolox/mg de proteína) al día 4 (903.61 nmol trolox/mg de proteína); posteriormente fue decreciendo, hasta su concentración más baja en el día 10 (497.09 nmol trolox/mg de proteína,  $P < 0.05$ ). Posteriormente se observó un ligero incremento en los días 13 (678.07), 16 (633.63) y 19 (668.17 nmol trolox/mg de proteína).

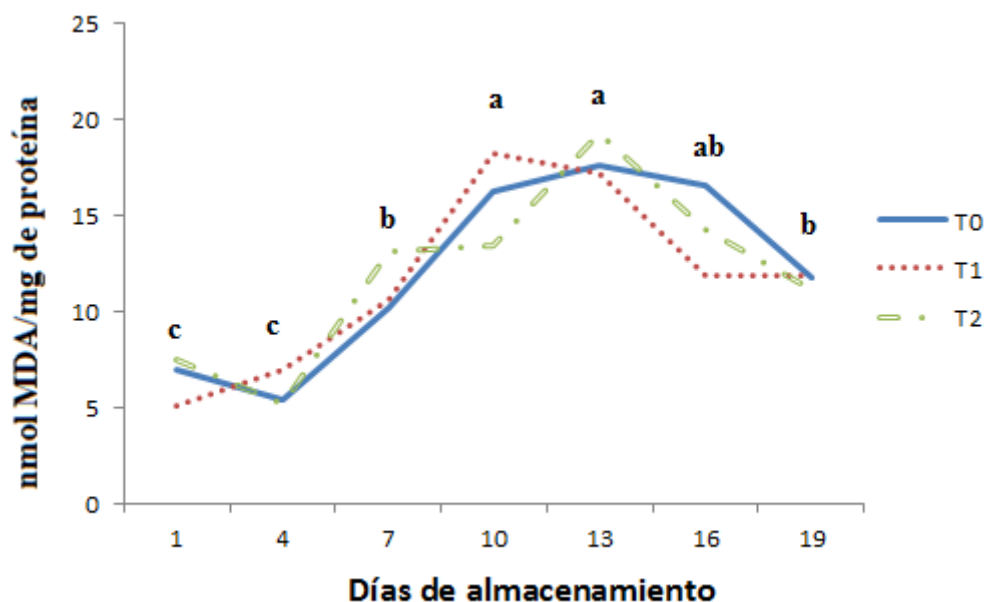




T0: testigo, T1: dieta con 8 % de pulpa de café, T2: dieta con 16 % de pulpa de café en la dieta.

Figura 4.2. Capacidad antioxidante a diferentes días de almacenamiento en carne de ovinos alimentados con dietas con diferentes concentraciones de pulpa de café.

No se encontró efecto de tratamiento en retardar la oxidación de la carne ( $P > 0.05$ ). En los primeros 4 días de vida de anaquel no se observó que la carne tuviera un proceso de oxidación; sin embargo, existió un incremento notorio ( $P < 0.05$ ) a partir del día 7 y se mantuvo hasta el día 13 de almacenamiento, donde se presentó la máxima oxidación (18.00 nmol MDA/mg de proteína), para posteriormente tener un ligero descenso en los días 16 y 19 (Figura 4.3).



T0= Testigo, T1=8 % de pulpa de café, T2=16 % de pulpa de café

Figura 4.3. Oxidación a diferentes días de almacenamiento en carne de ovinos alimentados con dietas con diferentes concentraciones de pulpa de café.

## 4.6 Discusión

Al incrementarse la inclusión de pulpa de café se incrementó la capacidad antioxidante de las dietas, esto muy probablemente se deba a los compuestos fenólicos encontrados como el ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido gálico, los cuales son compuestos con propiedades antioxidantes (Yen *et al.*, 2002; Gülçin, 2006; Marinova *et al.*, 2009).

### 4.6.1 Evaluación de la canal y composición química

La inclusión de pulpa de café en la dieta incrementó los rendimientos de canal caliente y fría al incluirla en un 16 %, e incrementó el rendimiento verdadero de la canal con la inclusión de 8 y 16 %. El rendimiento de la canal caliente reportado en el presente estudio está en el rango de

47.10 a 51.00 % reportado por [Burke y Apple \(2007\)](#) para diferentes razas de pelo. El incremento del rendimiento de la canal al usar pulpa de café es muy importante ya que representa más carne disponible por animal. [Donkoh et al. \(1988\)](#) reportaron que en pollos de engorda la pulpa de café redujo el rendimiento de canal, los autores atribuyen este menor rendimiento a las menores ganancias de los pollos de engorda con pulpa de café y por lo tanto bajos pesos al sacrificio.

La grasa de rumen e intestinos se redujo conforme se incrementó la inclusión de pulpa de café en la dieta, esto es probable que se deba al 0.5 % de cafeína encontrado en la pulpa de café, ya que [Poornahavandi y Zamiri \(2008\)](#) reportaron que al suministrar 80 y 100 mg de cafeína con efedrina a corderos por 95 días se redujo la grasa interna y grasa de la carne. Los efectos lipolíticos de la cafeína son bien conocidos desde hace ya varios años, [Spencer et al. \(1983\)](#) reportaron que la administración de cafeína, previo al sacrificio, incrementa la lipólisis. [Hasegawa y Mori \(2000\)](#) en un estudio *in vitro* demostraron que el té verde, el cual contiene 2.4 % de cafeína tiene un efecto antiadipogénico, es decir inhibe la formación de grasa y un efecto lipolítico el cual es debido a un incremento en el nivel de cAMP. [Acheson et al. \(2004\)](#) determinaron que la cafeína estimula el gasto energético en reposo y este aumento de la termogénesis celular está acompañado por un recambio de ácidos grasos y la oxidación de lípidos. Uno de estos cambios se presenta en el incremento en la concentración de ácidos grasos libres ([Hawkins y Davis, 1970](#)), por lo que el incremento en el rendimiento de la canal posiblemente se debió a que las dietas con pulpa de café redujeron la grasa de rumen e intestinos, la cual no forma parte de la canal, por lo que la proporción de canal con respecto al peso vivo fue mayor.

En el presente experimento no se encontró que la pulpa de café modificara el pH de la carne. Al respecto [Macit et al. \(2003\)](#) al suplementar con 45 mg de vitamina E (el cual es un potente antioxidante) durante 75 días encontraron que el pH no se modificó; de igual manera [Ripoll et al. \(2013\)](#), encontraron que el tiempo de suplementación con vitamina E no modifica el pH. [Majdoub-Mathlouthi et al. \(2013\)](#) reportaron que el nivel de inclusión de concentrado y los pesos al sacrificio tampoco modifican el pH.

No se encontró que las dietas con pulpa de café modificaran el área del ojo de la costilla (AOC). La medición del AOC en el *longissimus dorsi* junto con otras variables como el peso vivo ayuda a predecir la cantidad de músculo y grasa disponible en la canal ([Sahin et al., 2008](#)), esta medición tiene una alta correlación con el peso vivo ([Fernández et al., 1997](#)), por lo que la influencia de las dietas con diferentes niveles de pulpa de café podría deberse más al peso final en que los animales llegan al sacrificio. En el presente estudio los ovinos de los tres tratamientos tuvieron pesos similares al sacrificio.

La inclusión de pulpa de café no modificó la composición química de la carne; por el contrario [Poornahavandi y Zamiri \(2008\)](#) reportaron que 80 mg de cafeína más 8 mg de efedrina incrementó la proteína en materia seca de la carne y redujo la grasa al compararse cuando solo se agregaron 8 mg de efedrina. Esta tendencia no fue encontrada en el presente experimento en proteína y grasa, esto puede deberse a que los pesos al sacrificio fueron de 33 kg, mientras que [Poornahavandi y Zamiri \(2008\)](#) sacrificaron a pesos mayores de 53 kg, ya que se ha reportado que a medida que se incrementa el peso al sacrificio se incrementa la deposición de grasa ([Tahir et al., 1994](#); [Safdarian et al., 2008](#)).

#### 4.6.2 Evaluación de color

La evaluación del color es de vital importancia en la carne, ya que es el principal atributo que determina su aceptabilidad, y está relacionado con el deterioro de la carne. El parámetro L\* refleja la luminosidad, donde 100 es igual a blanco y 0 es igual a negro. El parámetro a\* mide las tonalidades de rojo (+) a verde (-) y el parámetro b\* las tonalidades de amarillo (+) a azul (-). No se encontró que la inclusión de pulpa de café a niveles evaluados de 8 y 16 % de la dieta modificara los valores de L\*, a\* y b\*. Una posible causa por la que no se encontraron diferencias es que el tratamiento testigo contenía residuo de alfalfa y se ha demostrado que la alfalfa contiene 11.5 mg de vitamina E/kg MS (Ripoll *et al.*, 2013), y aunque en el presente estudio se usó residuo de alfalfa, que es el forraje residual que queda en la cosecha de la semilla, es muy probable que contenga cantidades considerables de vitamina E. Se ha demostrado que los forrajes se caracterizan por retardar la oxidación en carne fresca y almacenada, y preservar el color y el olor (Descalzo y Sancho, 2008). Al respecto diferentes versiones se han reportado; Santé- L houtellier *et al.* (2008) no encontraron diferencias en color en la carne entre ovinos alimentados con concentrado y ovinos en pastoreo de gramíneas, no obstante el color se modificó por efecto del tiempo de almacenamiento.

Se ha encontrado que la suplementación con antioxidantes como la vitamina E por al menos 20 días previo al sacrificio reducen los valores de oximioglobina, lo cual le da estabilidad al color de la carne (Ripoll *et al.*, 2013). Los valores de L\* se incrementaron del día 1 al día 4 *post-mortem* para posteriormente mantenerse estables; estos datos concuerdan con Santé- L houtellier *et al.* (2008) que encontraron que la luminosidad es más alta después del día 0 de almacenamiento. A diferencia de lo encontrado en el presente estudio en que la carne de los corderos de las tres dietas tuvieron mayores valores de L\* al incrementarse el tiempo de

almacenamiento, Luciano *et al.* (2009) al suministrar 8.9 % de MS de quebracho (*Schinopsis lorentzii*), la cual contiene taninos, encontraron que esta fue más oscura que la del testigo a través del tiempo de almacenamiento.

Petron *et al.* (2007) observaron que los valores de  $a^*$  tienden a disminuir a través del tiempo, a su vez Luciano *et al.* (2009) reportaron que esta reducción es menos pronunciada en ovinos alimentados con hierbas frescas por lo que las dietas ricas en antioxidantes tienden a tener valores de enrojecimiento más altos durante el periodo de almacenamiento. Esto es una consecuencia de la reducción de la oxidación de mioglobina, las cuales aseguran una estabilidad en el color y mejor apariencia de la carne. En el presente experimento se observaron valores más bajos de  $a^*$  en el día 10 para los tres tratamientos.

Se ha encontrado que los valores de  $b^*$  tienden a incrementarse a través de los días de almacenamiento, observándose mayores valores para la carne de ovinos alimentados con concentrado (Luciano *et al.*, 2009). Resultados similares se encontraron en el presente experimento, ya que los valores de  $b^*$  se incrementaron del día 1 al día 7 de vida de anaquel, no observándose más cambios en los días posteriores.

#### **4.6.3 Estado oxidativo**

Se ha demostrado que la suplementación con vitamina E por al menos 10 días, o el pastoreo en alfalfa disminuye la oxidación lipídica de la carne (Ripoll *et al.*, 2013). A pesar que la pulpa de café incrementó la capacidad antioxidante de las dietas, no se encontró que las dietas con pulpa de café modificaran los valores de FRAP en la carne de ovinos, por lo que es necesario evaluar si la inclusión de pulpa de café en dietas con pobre capacidad antioxidante pudiera incrementar su capacidad antioxidante y con ello retardar la oxidación. Se encontraron cambios en los

valores de FRAP por efecto del tiempo de almacenamiento. No existió una reducción en los nmol de trolox durante los primeros 4 días; sin embargo, la disminución que se da en el día 10 de almacenamiento se debe a que durante el proceso de almacenaje se van agotando los antioxidantes para contrarrestar el proceso de oxidación. Se ha encontrado que la carne de ovinos alimentados con dietas con quebracho el cual contiene compuestos antioxidantes, tienen mayor capacidad antioxidante (Luciano *et al.*, 2011).

La técnica TBARS mide la oxidación lipídica la cual se expresa en nmol de malondialdehído, que es un producto secundario de la oxidación de ácidos grasos. Se encontró que las tres dietas lograron retardar la oxidación hasta el día 4 de almacenamiento, sin embargo; posterior a esto la carne mostró un proceso acelerado de oxidación encontrándose la máxima oxidación entre los días 10 y 13 de almacenamiento. Los valores de FRAP y TBARS estuvieron relacionados inversamente, ya que se observó que cuando los valores de FRAP decrecieron los de TBARS aumentaron. Esto se debió a que la técnica FRAP mide indirectamente la cantidad de antioxidantes presentes en la carne, por lo que cuando estos se agotan la susceptibilidad a la oxidación aumenta.

Diferentes resultados se han encontrado con la suplementación de antioxidantes en la dieta y su efecto en la oxidación de la carne. Smeti *et al.* (2013) al evaluar aceites esenciales de rosamaría, los cuales contienen compuestos fenólicos, no encontraron que los aceites esenciales retardaran la oxidación de la carne a través del tiempo, Petron *et al.* (2007) reportan que el tipo de forraje no modifica los valores de TBARS; mientras que Karami *et al.* (2010) al suplementar cabras con vitamina E y con dos hierbas con sustancias fenólicas encontraron que las 3 dietas redujeron los valores de TBARS y protegieron de la oxidación lipídica a la carne. Macit *et al.* (2003) al suplementar con 45 mg de vitamina E durante 75 días encontraron que la suplementación redujo

los valores de TBARS a diferentes periodos de almacenamiento. También se ha encontrado que la carne de animales alimentados con *Vicia sativa* tienen menores valores de TBARS a través del tiempo (Luciano *et al.*, 2009). Debido a que se observó que la pulpa de café incrementó la capacidad antioxidante en las dietas es necesario seguir evaluando su inclusión en dietas con pobre actividad antioxidante y a niveles más altos de inclusión con el objetivo de conservar el color de la carne y retardar la oxidación.

#### **4.7 Conclusiones**

La pulpa de café, la cual contiene gran cantidad de ácidos fenólicos y cafeína incrementó el rendimiento de canal y disminuyó la grasa de rumen e intestinos. No se observó que la inclusión de pulpa de café modificara los indicadores de color y el estado oxidativo de la carne de los corderos; sin embargo, es necesario seguir su evaluación a inclusiones más altas o en dietas con pobre actividad antioxidante.

#### **4.8 Literatura citada**

- Acheson, K. J., Gremaud, G., Meirim, I., Montigon, F., Krebs, Y., Fay, L. B., Gay, L. J., Schneiter, P., Schindler, C., Tappy, L. 2004. Metabolic effects of caffeine in humans: lipid oxidation or futile cycling?. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79:40–6.
- AOAC. Official Methods of Analysis. 1990. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemist. Washington, D. C. pp: 1298.
- Benzie, I. F., Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239:70–76.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254.
- Burke, J. M., Apple, J. K. 2007. Growth performance and carcass traits of forage-fed hair sheep weathers. *Small Ruminant Research*, 67:264-270.



- Descalzo, A. M., Sancho, A. M. 2008. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79:423-436.
- Donkoh, A., Atuahene, C. C., Kese, A. G., Mensah-Asante, B. 1988. The nutritional value of dried coffee pulp (DCP) in broiler chicken's diets. *Animal Feed Science and Technology*, 22:139-146.
- Eikelenboom, G., Hoving-Bolink, A. H., Kluitman, I., Houben, J. H., Klont R. E. 2000. Effect of dietary vitamin E supplementation on beef colour stability. *Meat Science*, 54:17-22.
- Fernández, C., García, A., Vergara, H., Gallego, L. 1998. Using ultrasound to determine fat thickness and *longissimus dorsi* area on Manchego lambs of different live weight. *Small Ruminant Research*, 27:159-165.
- Ferreira, B. A., Aguilar, A. P., Pérez, O. J., Dos Santos, V. B., Maciel, C. R. 2001. Factores antinutricionais da casca e da polpa desidratada de café (*Coffea arabica* L.). armazenadas em diferentes períodos. *Revista brasileira de zootecnia*, 30 (4):1325-1331.
- Gülçin, I. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). 2006. *Toxicology*, 217:213-220.
- Hasegawa, N., Mori, M. 2000. Effect of powdered green tea and its caffeine content on lipogenesis and lipolysis in 3T3-L1 cell. *Journal of Health Science*, 46 (2):153-155.
- Hawkins, G. E., Davis, W. E. 1970. Changes in plasma free fatty acids and triglycerides in dairy cattle after dosing with coffee or caffeine. *Journal of Dairy Science*, 53 (1):52-55.
- ICO, International Coffee Organization. Informe sobre el mercado del café. Mayo 2010. <http://dev.ico.org/documents/cmr-0511-c.pdf>
- Karami, M., Alimón, A. R., Sazili, A. Q., Goh, Y. M. 2010. Meat quality and lipid oxidation of infraspinatus muscle and blood plasma of goats under dietary supplementation of herbal antioxidants. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9 (24):3039-3047.
- Luciano, G., Monahan, F. J., Vasta, V., Biondi, L., Lanza, M., Priolo, A. 2009. Dietary tannins improve lamb meat color stability. *Meat Science*, 81:120-125.
- Luciano, G., Vasta, V., Monahan, F. J., López-Andrés, P., Biondi, L., Lanza, M., Priolo, A., 2011. Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of *longissimus dorsi* muscle from lambs fed a tannin-containing diet. *Food Chemistry*, 124:1036–1042.
- Luciano, G., Biondi, L., Scerra, M., Mele, M., Lanza M., Priolo, M., A. 2013. The effect of the change from a herbage- to a concentrate-based diet on the oxidative stability of raw and cooked lamb meat. *Meat Science*, 95:212–218.

- Macit, M., Aksakal, V., Emsen, E., Aksu, M. I., Karaoglu, M., Esenbuga, N. 2003. Effects of vitamin E supplementation on performance and meat quality traits of Morkaraman male lambs. *Meat Science*, 63:51-55.
- Majdoub-Mathlouthi, L., Saïd, B., Say, A., Kraiem, K. 2013. Effect of concentrate level and slaughter body weight on growth performances, carcass traits and meat quality of Barbarine lambs fed oat hay based diet. *Meat Science*, 93:557-563.
- Marinova, E., Toneva, A., Yanisljeva, N. 2009. Comparison of the antioxidative properties of caffeic and chlorogenic acids. *Food Chemistry*, 114:1498-1502.
- Mushi, D.E., Safari, J., Mtenga, L. A., Kifaro, G. C., Eik, L. O. 2009. Effects of concentrate levels on fattening performance, carcass and meat quality attributes of small east African×Norwegian crossbred goats fed low quality grass hay. *Livestock Science*, 124:148–155.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochemistry*, 95:351-358.
- Poornahavandi, H. R., Zamiri, M. J. 2008. Effects of ephedrine and its combination with caffeine on body composition and blood attributes of fat-tailed Mehraban lambs. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 9 (1):51-58.
- Petron, M. J., Raes, K., Claeys, E., Lourenço, M., Fremaut, D., De Smet, S. 2007. Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. *Meat Science*, 75:737–745.
- Ramírez-Coronel, M. A., Marnet, N., Kumar-Kolli, V. S., Roussos, S., Guyot, S., Augur, C. 2004. Characterization and estimation of proanthocyanidins and other phenolics in coffee pulp (*Coffea arabica*) by thiolysis-high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:1344–1349.
- Restrepo, S. D., Narváez, C. C., Restrepo, S. L. 2009. Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. *Química Nova*, 32 (69):1517-1522.
- Ripoll, G., González-Calvo, L., Molino, F., Calvo, J. H., Joy, M. 2013. Effects of finishing period length with vitamin E supplementation and alfalfa grazing on carcass color and the evolution of meat color and the lipid oxidation of light lambs. *Meat Science*, 93:906–913.
- Safdarian, M., Zamiri, M. J., Hashemi, M., Noorolahi, H. 2008. Relationships of fat-tail dimensions with fat-tail weight and carcass characteristics at different slaughter weights of Torki-Ghashghaii sheep. *Meat Science*, 80:686–689.
- Sahin, E. M., Yardimci, M., Centingul, I. S., Bayram, I., Sensor, E. 2008. The use of ultrasound to predict the carcass composition of live Akkaraman lambs. *Meat Science*, 79:716–721.

- Sante´-Lhoutellier, V., E. Engel, P. Gatellier. 2008. Assessment of the influence of diet on lamb meat oxidation. *Food Chemistry*, 109:573–579.
- SAS, (Statistical Analysis System). 2002. SAS Proceeding Guide, versión 9. SAS Institute. Cary NC. USA.
- Smeti, S., Atti, N., Mahouachi, M. Munoz, F. 2013. Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) essential oils to increase the shelf life of Barbarine light lamb meat. *Small Ruminant*, 113:340–345.
- Spencer, G. S. G., Wilkins, L. J., Lister, D. 1983. Caffeine stimulated lipolysis protects pig against catecholamine-induced dark cutting. *Meat Science*, 8:53-64.
- Sroka, Z., Cisowski, W. 2003. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41:753-758.
- Tahir, M. A., Al-Jassim, A. F., Abdulla, A. H. 1994. Influence of live weight and castration on distribution of meat, fat, and bone in the carcass of goats. *Small Ruminant Research*, 14:219-223.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral fiber and no starch polysaccharides in relation to nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74:3583-3597.
- Wood, J. D., Enser, M. 1997. Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *British Journal of Nutrition*, 78 (1):49-60.
- Yen, G. C., Duh, P. D., Tsai, H. L. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, 79:307-313.

## V. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, OXIDACIÓN LIPÍDICA, ÁCIDO ASCÓRBICO Y GLUTATIÓN PEROXIDASA EN OVEJAS DE DIFERENTES PARTOS A TRAVÉS DE LA GESTACIÓN Y LACTANCIA

### 5.1 Resumen

El objetivo fue evaluar la capacidad antioxidante, lipoperoxidación, glutatión peroxidasa y ácido ascórbico durante la gestación y lactancia en ovejas con diferente número de partos. Ovejas cruce de Dorset y Suffolk fueron distribuidas de acuerdo al número de partos: 1 parto, 2 partos y  $\geq 4$  partos, y muestreadas cuando estaban no gestantes, al primer, segundo, tercer, cuarto mes y día 143 de gestación, así como en el día 5 y al mes de lactancia. Se encontró que la capacidad antioxidante tuvo dos caídas, la primera en el segundo mes de gestación y la segunda en el día 5 de lactancia. La susceptibilidad a la oxidación lipídica disminuyó al incrementarse el número de partos. Se observó una disminución en la oxidación lipídica en el día 143 de gestación con respecto a los demás muestreos durante la gestación y lactancia. La glutatión peroxidasa se incrementó cuando se presentaron las dos caídas en la capacidad antioxidante. El ácido ascórbico disminuyó en la lactancia y gestación registrando sus valores más bajos en el tercer mes de gestación. Se concluye que la susceptibilidad a la oxidación lipídica disminuye al incrementarse el número de partos y que en ovejas durante la gestación y lactancia existe un mecanismo para evitar la oxidación lipídica que involucra cambios en la capacidad antioxidante, glutatión peroxidasa y ácido ascórbico.

**Palabras clave:** *ácido ascórbico, glutatión peroxidasa, oxidación lipídica, estrés oxidativo.*

## 5.2 Abstract

This study was conducted to assess the antioxidant capacity, lipoperoxidation, glutathione peroxidase and ascorbic acid during pregnancy and lactation in sheep of different parity. Dorset x Suffolk ewes were classed by the number of parity: 1, 2 and  $\geq 4$ . They were sampled before pregnancy and in the first, second, third, and fourth months, then on day 143 of pregnancy, as well as on day 5 and month of lactation. It was found that antioxidant capacity had two drops, the first during the second month of pregnancy and the second on day 5 of lactation. Susceptibility to lipid oxidation decreased with an increased number of parturitions. A decrease in lipid oxidation was observed on day 143 of gestation relative to the other samplings during gestation and lactation. Glutathione peroxidase increased when the two drops in antioxidant capacity occurred. Ascorbic acid decreased during lactation and gestation; the lowest values were recorded in the third month of gestation. It is concluded that susceptibility to lipid oxidation decreases with the number of parturitions and that in ewes during gestation and lactation, there is a mechanism that prevents lipid oxidation involving changes in antioxidant capacity, glutathione peroxidase and ascorbic acid.

**Key words:** *ascorbic acid, glutathione peroxidase, lipid oxidation, oxidative stress.*

## 5.3 Introducción

El metabolismo aeróbico genera moléculas prooxidantes llamadas radicales libres. En el organismo animal existe un sistema de antioxidantes enzimático y no enzimático (Al-Gubory *et al.*, 2004) que ayudan a lograr una homeostasis; sin embargo, cuando la producción de radicales libres es mayor a lo que el organismo animal puede contrarrestar se genera un estado de estrés

oxidativo (Agarwal *et al.*, 2006). Se ha demostrado que el estrés oxidativo ocasiona problemas como retención de placenta (Brzezinska-Slebodzinsk *et al.*, 1994), abortos espontáneos, restricción del crecimiento fetal, parto prematuro, bajo peso al nacer (Al-Gubory *et al.*, 2010), así como mayor incidencia de mastitis (Bouwstra *et al.*, 2010), por lo que se hace necesario su prevención, ya que además de proteger a las madres se estaría mejorando el estado oxidativo de las crías (Kamiloğlu *et al.*, 2006).

Varias investigaciones se han realizado para determinar el estado oxidativo en animales durante la gestación (Rezapour y Taghinejad-Roudbaneh, 2011), en el posparto (Celi *et al.*, 2010; Casamassima *et al.*, 2012) y durante la lactancia (Pedernera *et al.*, 2010) observándose cambios durante estos estados fisiológicos. También se ha observado que la edad es un factor que determina la capacidad antioxidante y la oxidación lipídica en plasma de las ovejas (Salar-Amoli y Baghbanzadeh, 2010). Por ello es necesario identificar el inicio de esos cambios desde antes del empadre, para poder determinar periodos de suplementación con antioxidantes, ya que se ha determinado que estos ayudan a contrarrestar el estrés oxidativo (Liu *et al.*, 2013).

La glutatión peroxidasa (GSH-Px) es un antioxidante enzimático que cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno, lo cual ayuda a prevenir el daño oxidativo (Arthur, 2000). Actualmente se piensa que la síntesis de vitamina C en rumiantes es suficiente para satisfacer sus requerimientos, por esta razón su suplementación no es una práctica común en los sistemas de producción de ovinos. Sin embargo, en camellas se ha encontrado que esta vitamina tiene cambios de concentración durante la gestación y la lactancia (Mohamed *et al.*, 2011), por lo que es necesario determinar los cambios en esta vitamina durante la lactancia y gestación y su relación con otros indicadores del estado oxidativo. Debido a que en un rebaño se encuentran ovejas de diferente número de partos y en diferente estado fisiológico, es necesario determinar si

los cambios en el estado oxidativo son diferentes, por lo que el objetivo de este experimento fue determinar los cambios en el estado oxidativo de ovejas de diferente número de partos a través de la gestación y la lactancia.

## **5.4 Materiales y métodos**

### **5.4.1 Animales**

El estudio se realizó de noviembre del 2013 a mayo del 2014 en las instalaciones de la granja experimental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Se utilizaron 30 ovejas cruce de Dorset y Suffolk distribuidas en un diseño completamente al azar en tres tratamientos. T1: ovejas primíparas con una edad promedio de 15 meses (n=10), las cuales al quedar gestantes y lactando se clasificaron como de primer parto; T2: ovejas de primer parto (n=10), las cuales al quedar gestante y lactando se clasificaron como de segundo parto y T3: ovejas  $\geq 3$  partos (n=10), las cuales al quedar gestantes y lactando se clasificaron como  $\geq 4$  partos. Las ovejas se vacunaron y desparasitaron al inicio del experimento y permanecieron confinadas en grupo durante el tiempo de estudio, donde se alimentaron con forraje de avena deshidratada a libre acceso y con 400 gramos de concentrado (Cuadro 5.1). Las borregas se pre-sincronizaron con dos dosis de cloprostenol con 8 días de separación y 6 días después de la segunda aplicación se les insertó un dispositivo intravaginal impregnado con progesterona (CIDR<sup>MR</sup>) por 11 días, las borregas fueron empadradas al presentar estro posterior al retiro del CIDR.

Cuadro 5.1. Ingredientes de la dieta suministrada a ovejas durante la etapa de gestación y lactancia

Ingrediente	Porcentaje en la dieta
Maíz molido	40.00
Sorgo molido	11.15
Pasta de soya	12.08
Rastrojo de maíz	30.05
Melaza	5.00
*Sal mineral	1.00

\* Fósforo (17.5 %), Sodio (12.9 %), Calcio 5.6 %, Magnesio 3.4 %.

#### 5.4.2 Muestreos

Las ovejas fueron muestreadas en la vena yugular con tubos de 5 mL con EDTA para la obtención de plasma, cuando se encontraban no gestantes (día 5 del ciclo estral), al 1er, 2do, 3er, 4to mes y al día 143 de gestación; así como a los 5 días y al 1er mes de lactancia. Los tubos fueron centrifugados a 2500 g por 10 minutos a 4°C. El plasma fue depositado en tubos de criostato y almacenado a -40° C hasta su análisis.

El promedio del tiempo de gestación de las ovejas fue de 146 días, por lo que el muestreo en el día 143 correspondió a muestrear a las ovejas 3 días antes del parto. Todas las ovejas parieron una sola cría.

#### 5.4.3 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante total se midió usando la técnica FRAP (poder antioxidante de reducción férrica) de [Benzie y Strain \(1999\)](#). Se preparó una mezcla formada por una solución amortiguadora de acetato 300 mM a pH 3.6, una solución acuosa de cloruro férrico



hexahidratado (Fe III) 20 mM y 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) 10 mM (disuelto en HCl 40 mM), en una relación 10:1:1 respectivamente. Se tomó 1.5 mL de mezcla y se agregaron 50  $\mu$ L de muestra. Las muestras se incubaron a 37 °C por 10 min y se obtuvieron sus absorbancias por espectrofotometría a 593 nm. Se utilizó 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametil-croman-2-ácido carboxílico (trolox) a diferentes concentraciones (0.2 -1.6 mM) como estándar para calcular los resultados.

#### **5.4.4 Lipoperoxidación**

La lipoperoxidación se midió mediante la prueba de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acuerdo al procedimiento descrito por [Ohkawa \*et al.\* \(1979\)](#) con algunas modificaciones. Se tomó una alícuota de 100  $\mu$ L y se añadió 1 mL de ácido tiobarbitúrico al 0.8% y 2 mL de ácido acético al 20% ajustado a pH 2.5. Las muestras se mantuvieron en ebullición 60 min y posteriormente se enfriaron con agua y hielo. Se les agregaron 5 mL de n-butanol (n-butyl alcohol) y se agitaron vigorosamente para luego centrifugarse 10 min a 4000 rpm. Las absorbancias de los sobrenadantes se midieron por espectrofotometría a 532 nm. Los resultados se calcularon utilizando diferentes concentraciones (1-8 mM) de malondialdehído (MDA), obtenido por hidrólisis ácida a partir de 1,1,3,3- tetraetoxipropano.

#### **5.4.5 Glutación peroxidasa**

Para medir la actividad de la glutatión peroxidasa se empleó la técnica de [Lawrence y Burk \(1976\)](#). Alícuotas de 100  $\mu$ L se tomaron por duplicado de cada muestra; a cada una se les agregaron 800  $\mu$ L de una mezcla formada por solución amortiguadora de fosfatos 50 mM (pH 7.0) con EDTA 1 mM y azida de sodio 1 mM, GSH (reducido) 1 mM, glutatión reductasa 1U/ml y NADPH 0.2 mM. Cada prueba se acompañó de un control sin muestra para descartar la oxidación no enzimática del NADPH. Las pruebas y los controles se incubaron a 37 °C por 5

min y luego se les agregaron 100  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  2.5 mM. La absorbancia se leyó a 340 nm a los 0 y 5 min. El coeficiente de absorción molar del NADPH de  $6.22 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  se empleó para los cálculos. Los resultados del NADPH oxidado se presentan en nmol/mL/min.

#### 5.4.6 Ácido ascórbico

El análisis de ácido ascórbico se realizó de acuerdo a la técnica descrita por [Jacota y Dani \(1982\)](#), con algunas modificaciones las cuales consistieron en colocar 1.6 mL de ácido tricloroacético al 10 % y agregar 400  $\mu\text{L}$  de plasma, agitar vigorosamente por 5 segundos, incubar por 5 minutos en agua-hielo, y posteriormente centrifugar a 3000 rpm por 5 minutos. Se tomó 1 mL del sobrenadante y agregaron 100  $\mu\text{L}$  de folin fenol al 10 %. Se agitó por 3 segundos e incubó a temperatura ambiente por 10 minutos. La lectura se hizo por espectrofotometría a 760 nm. Las curvas se realizaron con ácido ascórbico a concentraciones de 0, 20, 40, 80 y 160  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Para los análisis se utilizó un espectrofotómetro UV-V15 marca Thermo Scientific. Todos los análisis de los indicadores del estado oxidativo se hicieron por duplicado.

#### 5.4.7 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza utilizándose el modelo estadístico  $Y_{ijk} = \mu + T_i + M_j + T_iM_j + A_{k(i)} + E_{ijk}$ . Donde:

$Y_{ijk}$ =Respuesta del i-ésimo parto en el j-ésimo muestreo de la k-ésima repetición,  $\mu$ = Media general,  $T_i$ = Efecto del i-ésimo parto,  $M_j$ = Efecto del j-ésimo muestreo,  $T_iM_j$ = Efecto del i-ésimo parto en el j-ésimo muestreo,  $A_{k(i)}$ = Efecto del i-ésimo parto anidado al k-ésimo animal y  $E_{ijk}$ = Error experimental. Cuando fue detectada alguna significancia menor a 0.05 se realizó una

prueba de medias por la prueba de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron con el software SAS version 9 (2002).

## **5.5 Resultados**

### **5.5.1 Capacidad antioxidante**

La capacidad antioxidante no cambió por efecto del número de partos de las ovejas; sin embargo, si se modificó por la gestación y la lactancia ( $P < 0.05$ ) (Figura 5.1).

En cuanto a la gestación, la capacidad antioxidante de las hembras disminuyó en el mes 1 ( $171.66 \text{ nmol trolox mL}^{-1}$ ) y 2 ( $146.39 \text{ nmol trolox mL}^{-1}$ ) con respecto a las hembras no gestantes ( $227.72 \text{ nmol trolox mL}^{-1}$ ) ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, ésta volvió a incrementarse desde el tercer ( $168.29 \text{ nmol trolox mL}^{-1}$ ) y cuarto mes ( $205.11 \text{ nmol trolox mL}^{-1}$ ) hasta el día 143 de gestación ( $223.25 \text{ nmol trolox mL}^{-1}$ ). Aunque no fue tan baja como en el segundo mes de gestación, en el día 5 de lactancia se observó una segunda caída en la capacidad antioxidante ( $185.36 \text{ nmol trolox mL}^{-1}$ ), para posteriormente tener un incremento al mes de lactancia ( $256.03 \text{ nmol trolox mL}^{-1}$ ).

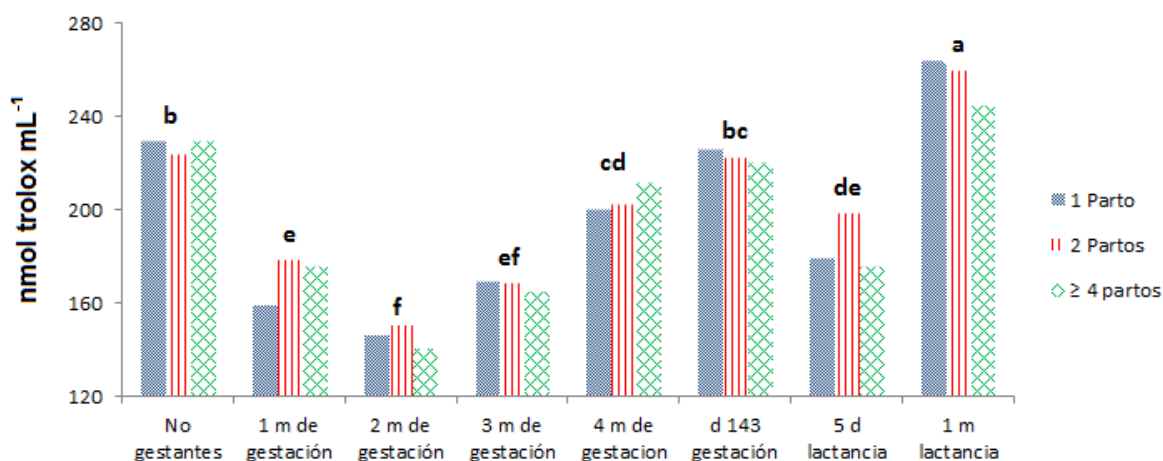


Figura 5.1. Capacidad antioxidante en plasma de ovejas de diferentes partos medida por la técnica FRAP cuando estaban no gestantes, al primer, segundo, tercer y cuarto mes y en el día 5 y primer mes de lactancia.

### 5.5.2 Lipoperoxidación

El número de partos modificó la lipoperoxidación encontrándose que la oxidación disminuyó al incrementarse el número de partos (Cuadro 5.2), aunque solo existió diferencia ( $P < 0.05$ ) entre ovejas de primer parto ( $4.02 \text{ nmol MDA mL}^{-1}$ ) y las de  $\geq 4$  partos ( $3.49 \text{ nmol MDA mL}^{-1}$ ). La oxidación en plasma también se modificó por el estado fisiológico de las ovejas. Esta fue menor ( $P < 0.05$ ) en el día 143 de gestación con respecto a los demás periodos durante la gestación y lactancia (Figura 5.2).

Cuadro 5.2. Concentraciones de malondialdehido en ovejas de diferentes partos

	1 parto	2 partos	$\geq 4$ partos
nmol MDA mL <sup>-1</sup>	$4.02 \pm 0.13^a$	$3.69 \pm 0.13^{ab}$	$3.49 \pm 0.13^b$

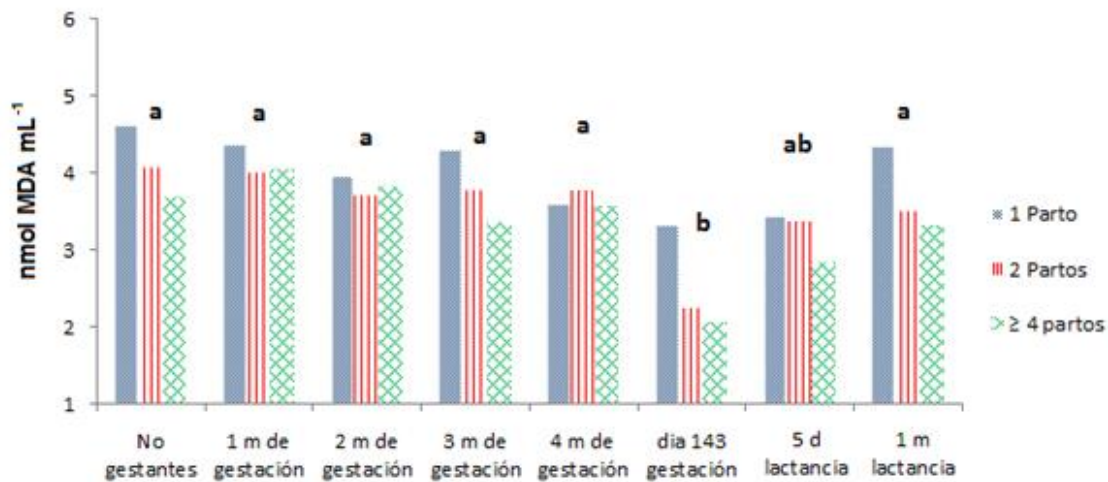


Figura 5.2. Concentraciones de malondialdehído (MDA) en plasma de ovejas de diferentes partos medida por la técnica TBARS cuando estaban no gestantes, al primer, segundo, tercer y cuarto mes y en el día 5 y primer mes de lactancia.

### 5.5.3 Glutación peroxidasa

El número de partos no influyó en los valores de la glutatión peroxidasa. Estos valores se modificaron ( $P < 0.05$ ) por el estado fisiológico de las ovejas, encontrándose los valores máximos en el segundo mes de gestación y en el día 5 de lactancia, por el contrario los valores más bajos se encontraron en el primer y tercer mes de gestación. En los demás periodos de la gestación y lactancia no se encontró una tendencia definida (Figura 5.3).

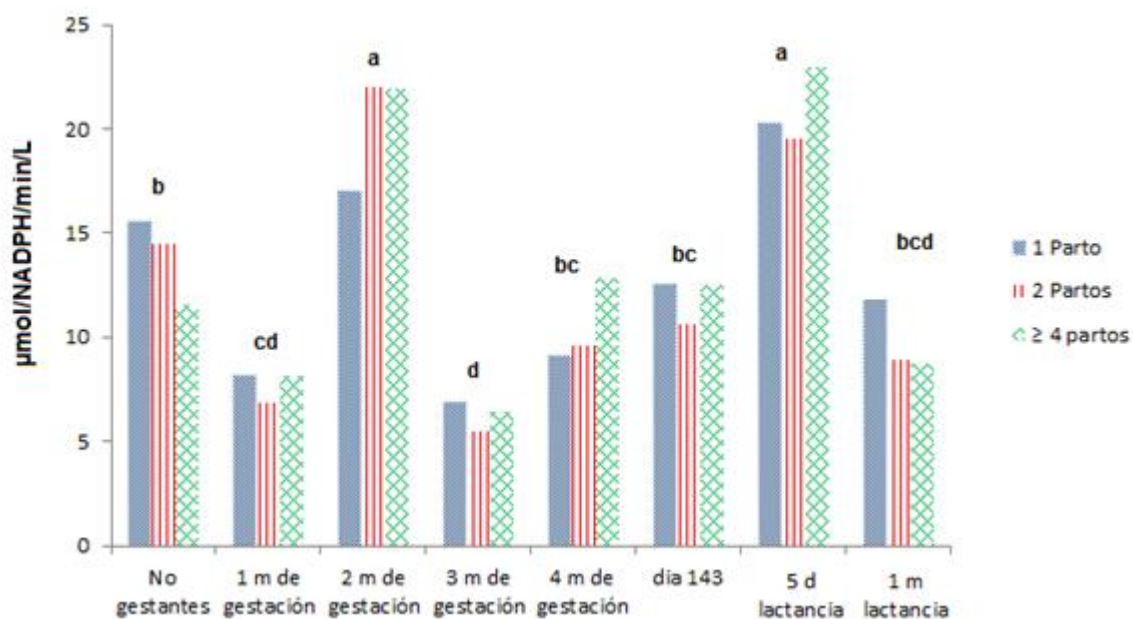


Figura 5.3. Glutación peroxidasa en plasma de ovejas de diferentes partos cuando estaban no gestantes, al primer, segundo, tercer y cuarto mes, y en el día 5 y primer mes de lactancia.

#### 5.5.4 Ácido ascórbico

El número de partos no influyó ( $P < 0.05$ ) en los valores de ácido ascórbico; sin embargo, se observó que los niveles de ácido ascórbico fueron disminuyendo ( $P < 0.05$ ) desde que las ovejas estaban no gestantes ( $10.14 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) hasta alcanzar sus valores más bajos en el tercer mes de gestación ( $3.99 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), lo que representa una disminución de alrededor del 60.4 % de la vitamina C. Posterior a esto se encontró un incremento ( $P < 0.05$ ) en el cuarto mes de gestación ( $5.79 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e incrementó aún más en el día 143 de gestación ( $6.95 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Aunque no fue significativo ( $P > 0.05$ ) en el día 5 de lactancia se observó una segunda disminución ( $5.36 \mu\text{g mL}^{-1}$ , figura 5.4).

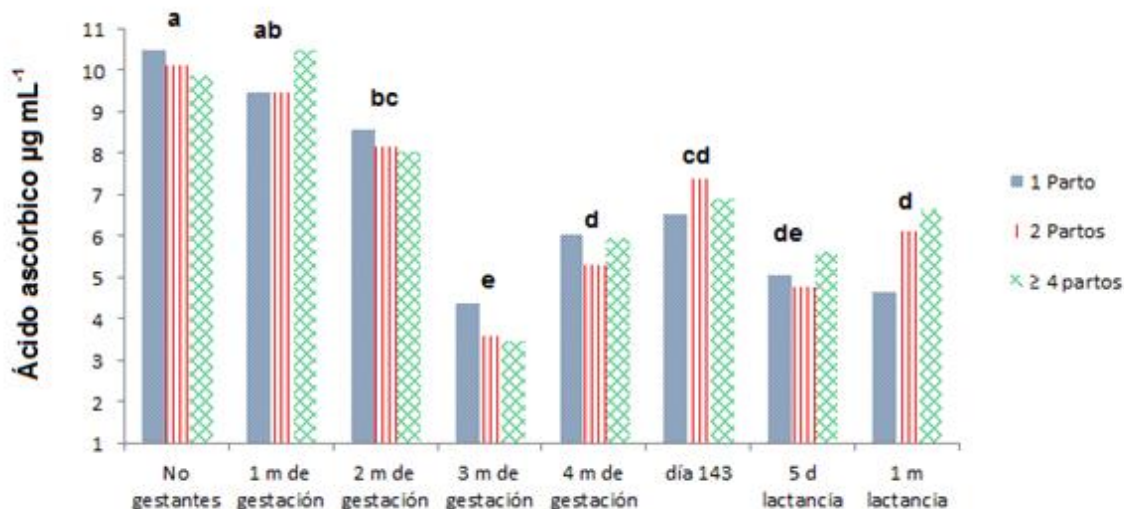


Figura 5.4. Ácido ascórbico en plasma de ovejas de diferentes partos a través de la lactancia y gestación.

## 5.6 Discusión

### 5.6.1 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante presentó dos caídas, la primera en el segundo mes de gestación, la cual empieza su descenso desde el primer mes de gestación. La segunda caída se presentó 5 días posteriores al parto, aunque esta fue menor a la primera.

[Turk et al. \(2013\)](#) encontraron que la capacidad antioxidante en vacas lecheras disminuye una semana antes del parto, mientras que en el presente estudio en ovejas se encontró una caída 5 días posteriores al parto. [Kankofer et al. \(2010\)](#) reportan que en vacas la capacidad antioxidante incrementa 4 semanas antes del parto hasta 5 días después del parto, con una dramática reducción al parto, observándose otro aumento después del parto; algo similar se encontró en la presente investigación, donde después de la primer reducción en la capacidad antioxidante en el

segundo mes de gestación existió un incremento hasta el día 143 de gestación, solo que a diferencia de [Kankofer et al. \(2010\)](#) la caída en la capacidad antioxidante se presenta 5 días posteriores al parto para posteriormente volver a tener un incremento.

Las dos formas por las que se modifica la capacidad antioxidante son a través del consumo de antioxidantes o porque el organismo hace una mayor utilización de estos. Debido a que las ovejas consumieron la misma dieta durante la gestación y lactancia, los cambios se pudieron deber a una mayor utilización de los antioxidantes. Durante la gestación el metabolismo de los lípidos, los cuales son susceptibles a la oxidación se ve modificado ([Loy et al., 2013](#)), es de suponer que en este periodo se dan cambios en la utilización de antioxidantes, por lo que en el presente experimento en los primeros 2 meses de gestación y durante el parto el gasto de antioxidantes incrementa para contrarrestar la producción de radicales libres.

La disminución de la capacidad antioxidante ha sido reportada alrededor del parto; sin embargo, poco se sabía acerca de su disminución en los primeros dos meses de gestación cuando se llevan a cabo eventos reproductivos importantes como la implantación, desarrollo de la placenta, y cambios hormonales. Previo a estas disminuciones es necesario evaluar la suplementación con antioxidantes y su beneficio fisiológico y reproductivo, ya que se ha demostrado que la suplementación con antioxidantes en la dieta incrementa la capacidad antioxidante en plasma ([Liu et al., 2013](#)).

### **5.6.2 Lipoperoxidación**

Al incrementarse el número de partos disminuyeron los niveles de malondialdehído, es decir que al incrementarse el número de partos la susceptibilidad a la oxidación disminuyó; por el contrario [Salar-Amoli y Baghbanzadeh \(2010\)](#) encontraron que los valores de MDA son mayores en



ovejas de 71 a 90 meses que en ovejas de 10 a 30 meses de edad, en el presente experimento estas diferencias se pudieron deber a que se utilizaron borregas en diferentes etapas de la gestación y lactancia donde el mecanismo antioxidante de las borregas de primer parto no fue tan eficiente para contrarrestar la oxidación lipídica. Los valores de MDA se mantuvieron relativamente estables a través de la gestación y la lactancia, con excepción del día 143 de gestación (3 días antes del parto) donde se observó una disminución.

En vacas lecheras se ha visto que la oxidación lipídica es mayor al final de la gestación que en el primer y segundo trimestre de gestación (Turk *et al.*, 2008), mientras que Bernabucci *et al.* (2005) al estudiar el estado oxidativo durante el periparto encontraron que la oxidación se incrementa 5 días antes del parto hasta llegar a sus valores máximos 25 días posteriores al parto. En ovejas se han encontrado diferentes resultados, Rezapour y Taghinejad-Roudbaneh (2011) encontraron que al avanzar la gestación se incrementa la lipoperoxidación, por el contrario Öztapak *et al.* (2005) al medir los valores de MDA en dos tiempos de gestación encontraron que la oxidación es similar en el día 105 y 148 de gestación. Además del plasma, la lipoperoxidación ha sido determinada en órganos reproductivos como los placentomas de borregas, donde se ha observado que la concentración de MDA es mayor en el día 80 que en los días 35 y 55 de gestación (Garrel *et al.*, 2010). En borregas con gestaciones dobles la lipoperoxidación se incrementa (Gür *et al.*, 2011), por lo que el incremento en el metabolismo puede ser la causa principal del incremento de la lipoperoxidación; en el presente experimento todas las borregas parieron una sola cría.

### 5.6.3 Glutación peroxidasa

La GSh-Px el cual es un antioxidante enzimático que cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno a formas menos dañinas no presentó una tendencia definida en sus valores, ya que estos variaron a través de la gestación y la lactancia. Los valores más altos se encontraron en el segundo mes de gestación y en el día 5 de lactancia, estos valores coinciden con las dos caídas en capacidad antioxidante, por lo que la GSh-Px pudiera estar incrementándose en las dos caídas que se dieron en la capacidad antioxidante para prevenir la oxidación lipídica y mantener los niveles de malondialdehído. El segundo pico de la glutatión peroxidasa coincide con [Liu et al. \(2013\)](#) quienes reportaron que la concentración de GSH-Px se incrementa en los días 1 y 7 postparto con respecto a 21 días anteriores y posteriores al parto. [Erisir et al. \(2009\)](#) en borregas gestantes reportan que los valores de glutatión peroxidasa son más altos en el segundo y tercer mes de gestación. Se ha evaluado la glutatión peroxidasa en diferentes estructuras ováricas encontrándose que en el cuerpo lúteo la actividad de la glutatión peroxidasa es menor en el día 15 con respecto a los días 40, 60, 80 y 128 ([Al-Gubory et al., 2004](#)). En placentomas durante la gestación temprana se ha encontrado que los valores de glutatión peroxidasa se incrementan del día 35 al 80 ([Garrel et al., 2010](#)), mientras que [Gür et al. \(2011\)](#) reportan que borregas con dos fetos tienen valores más bajos de esta enzima que las borregas con un solo feto y que las no preñadas.

### 5.6.4 Ácido ascórbico

La concentración de ácido ascórbico no se modificó por el número de partos de las borregas. El ácido ascórbico tuvo sus valores más bajos al tercer mes de gestación; también al igual que la capacidad antioxidante, en el día 5 de lactancia se observó una segunda caída, aunque esta fue

menor que la primera; esto coincide con [Kankofer et al. \(2010\)](#) quienes al evaluar los niveles de ácido ascórbico en vacas lecheras 4 semanas antes del parto hasta 5 semanas de lactancia encontraron que el ácido ascórbico disminuye al parto. A pesar que la concentración de ácido ascórbico se incrementó posterior a la caída que se presentó en el tercer mes de gestación, sus concentraciones no volvieron a ser iguales a las que tenían las ovejas no gestantes. Los resultados del presente experimento concuerdan con [Mohebbi-Fani et al. \(2012\)](#) quienes al evaluar la concentración de ácido ascórbico y vitamina A en los días 1, 7, 21 y 120 de gestación encontraron que esta disminuye al avanzar la gestación; sin embargo, por los tiempos de muestreo estos autores no detectaron que en el tercer mes de gestación existe una caída en la concentración de ácido ascórbico para posteriormente incrementar sus niveles.

En camellas, la concentración de ácido ascórbico es más baja durante la preñez que durante la lactancia y cuando están no gestantes ([Mohamed et al., 2010](#)). [Vannucchi et al. \(2007\)](#) en perras demostraron que los valores de vitamina A y E disminuyen durante la gestación contrarrestando con esto el estrés oxidativo. En el presente estudio se especula que al disminuir la vitamina C durante la gestación cumplió una función importante en evitar que la oxidación lipídica se incrementara y evitar el estrés oxidativo. A este respecto [Olayaki et al. \(2008\)](#) demostraron que la suplementación de vitamina C durante la preñez en mujeres reduce la concentración de MDA. Además del plasma, en algunas estructuras reproductivas como en los ovarios de cerdas se ha visto que el ácido ascórbico varía de acuerdo al ciclo estral y el periodo de gestación ([Petroff et al., 1996](#)). Se demostró que aunque las ovejas son capaces de sintetizar el ácido ascórbico; durante la gestación y lactancia su concentración se ve reducida, por lo que es necesario determinar si lo que disminuyó fue su síntesis o se incrementó su utilización así como sus probables beneficios en su suplementación.

## 5.7 Conclusiones

El número de partos no modificó la capacidad antioxidante, glutatión peroxidasa y ácido ascórbico, aunque la susceptibilidad a la oxidación disminuyó al incrementarse el número de partos, por lo que se especula que existe un mecanismo todavía desconocido en las ovejas de varios partos para disminuir la lipoperoxidación. Durante la gestación y lactancia las ovejas tienen cambios en su estado oxidativo, estos cambios fueron la reducción en la capacidad antioxidante en el segundo mes de gestación y a los 5 días de lactancia, tiempo en el cual se observaron los máximos valores en la glutatión peroxidasa. La vitamina C al igual que la capacidad antioxidante tuvo dos caídas, una dramática disminución al tercer mes de gestación y otra a los 5 días de lactancia. Es de suponer que estos cambios en el plasma de ovejas son para prevenir la lipoperoxidación, ya que se observó que esta no se incrementó, si no por el contrario disminuyó 3 días antes del parto.

## 5.8 Literatura citada

- Al-Gubory, K. H., Bolifraud, P., Germain, G., Nicole, A., Ceballos-Bicot, I. 2004. Antioxidant enzymatic defense systems in sheep corpus luteum throughout pregnancy. *Reproduction*, 128:767–774.
- Al-Gubory, K. H., Fowler, P. A., Garrel, C. 2010. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42:1634–1650.
- Agarwal, A., Gupta, S., Sikka, S. 2006. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 18:325–332.
- Arthur, J. R. 2000. The glutathione peroxidases. *CMLS Cellular and Molecular Life Sciences*, 57:1825-1835.
- Benzie, I. F., Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239:70–76.

- Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., Nardone, A. 2005. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88:2017–2026.
- Bouwstra, R. J., Nielen, M., Newbold, J. R., Jansen, E. H. J., Jelinek, H. F., Van Werven, T. 2010. Vitamin E supplementation during the dry period in dairy cattle. Part II: Oxidative stress following vitamin E supplementation may increase clinical mastitis incidence postpartum. *Journal of Dairy Science*, 93:5696–5706.
- Brzezinska-Slebodzinsk, E., Miller, J. K., Quigley, J. D., Moore J. R. 1994. Antioxidant status of dairy cows supplemented prepartum with vitamin E and selenium. *Journal of Dairy Science*, 77:3087-3095.
- Casamassima, D., Palazzo, M., Martemucci, G., Vizzarri, F., Corino, C. 2012. Effects of verbascoside on plasma oxidative status and blood and milk production parameters during the peripartum period in Lacaune ewes. *Small Ruminant Research*, 105:1– 8.
- Celi, P., Di Trana, A, Claps, S. 2010. Effects of plane of nutrition on oxidative stress in goats during the peripartum period. *The Veterinary Journal*, 184:95–99.
- Erisir, M., Benzer, F., Kandemir, F. M. 2009. Changes in the rate of lipid peroxidation in plasma and selected blood antioxidants before and during pregnancy in ewes. *Acta Veterinaria Brno*, 78:237–242.
- Garrel, C., Fowler P. A., Al-Gubory, K. H. 2010. Developmental changes in antioxidant enzymatic defenses against oxidative stress in sheep placentomas. *Journal of Endocrinology*, 205:107–116.
- Gür, S., Türk, G., Demirci, E., Yüce, A., Sönmez, M., Özer, S., Aksu, E. H. 2011. Effect of pregnancy and foetal number on diameter of corpus luteum, maternal progesterone concentration and oxidant/antioxidant balance in ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, 46:289–295.
- Jakota, S. K., Dani, H. M. 1982. A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry*, 127:178-182.
- Kamiloğlu, N. N., Beytu, E., Güven, A., Altinsaat, C. 2006. Changes in the erythrocyte anti-oxidant system of offspring of dams treated with Vitamin A and carotene during gestation. *Small Ruminant Research*, 65:142–148.
- Kankofer, M., Albera, E., Feldman, M., Gundling N., Hoedeamker, M. 2010. Comparison of antioxidative/oxidative profiles in blood plasma of cows with and without retained fetal placental membranes. *Theriogenology*, 74:1385–1395.
- Lawrence, R. A., Burk, R. F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 71:952-958.

- Liu, H. W., Zhou, D. W., Lit K. 2013. Effects of chestnut on performance and antioxidative status of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96:5901-5907.
- Loy, S. L., Sirajudeen, K. N. S., Jan, J. M. H. 2013. Increase in maternal adiposity and poor lipid profile is associated with oxidative stress markers during pregnancy. *Preventive Medicine*, 57:S41–S44.
- Mohamed, H. E., Alhaidary A., Beynen, A. C. 2011. Ascorbic acid status of female camel during different phases of reproduction. *Tropical Animal Health Production*, 43:279-281.
- Mohebbi-Fani, M., Mirzaci, A., Nazifi, S., Shabbooie, Z. 2012. Changes of vitamins A, E, and C and lipid peroxidation status of breeding and pregnant sheep during dry seasons on medium-to-low quality forages. *Tropical Animal Health Production*, 44:259-265.
- Olayaki, L. A., Ajao, S. M., Jimoh, G. A. A., Aremu I. T., Soladoye, A. O. 2008. Effect of vitamin C on malondialdehyde (MDA) in pregnant nigerian women. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 4:105-108.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analital Biochemistry*, 95:351-358.
- Öztabak, K., Civelek, S., Özpınar, A., Burçk, A., Esen, F. 2005. The effects of energy restricted diet on the activities of plasma Cu-Zn SOD, GSH-Px, CAT and TBARS concentrations in late pregnant ewes. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29:1067-1071.
- Pedernera, M., Celi, P., García, S. C., Salvin, H. E., Barchia, I., Fulkerson, W. J. 2010. Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress in early-lactating dairy cows grazing pasture. *The Veterinary Journal*, 186:352–357.
- Petroff, B. K., Dabrowski, K., Ciereszko, R. E., Ottobre, J. S. 1997. Total ascorbate and dehydroascorbate concentrations in porcine ovarian stroma. Follicles and corpora lutea throughout the estrous cycle pregnancy. *Theriogenology*, 47:1265-1273.
- Rezapour, A., Taghinejad-Roudbaneh, M. 2011. Effects of food restriction on oxidative stress in ghezel ewes. *Journal on Animal and Veterinary Advances*, 10:980-986.
- Salar-Amoli, J., Baghbanzadeh, A. 2010. Oxidative stress in Shaal sheep of different age groups. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 34:379-383.
- SAS, (Statistical Analysis System). 2002. SAS Proceeding Guide, versión 9. SAS Institute. Cary NC. USA.
- Turk, R., Juretić, D., Gereš, D., Svetina, A., Turk, N., Flegar-Meštrić, Z. 2008. Influence of oxidative stress and metabolic adaptation on PON1 activity and MDA level in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 108:98–106.

Turk, R., Podpečan, O., Mrkun, J., Kosec, M., Flegar-Mestrić, Z., Perkov, S., Starič, J., Robić, M., Belić, M., Zrimsek, P. 2013. Lipid mobilization and oxidative stress as metabolic adaptation processes in dairy heifers during transition period. *Animal Reproduction Science*, 141 (3):109-115.

Vannucchi, C. I., Jordao, A. A., Vannucchi, H. 2007. Antioxidant compounds and oxidative stress in female dogs during pregnancy. *Research in Veterinary Science*, 83:188–193.

## VI. ESTADO OXIDATIVO Y PARÁMETROS REPRODUCTIVOS EN OVEJAS SUPLEMENTADAS CON PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) DURANTE LA SINCRONIZACIÓN Y AL INICIO DE LA GESTACIÓN

### 6.1 Resumen

Se evaluó la suplementación con pulpa de café en el estado oxidativo y en las características reproductivas en ovejas durante la sincronización del estro y al inicio de la gestación. Cuarenta ovejas fueron distribuidas en dos tratamientos, T0: (n=21) ovejas suplementadas con 450 g de alimento testigo y T1: (n=19) ovejas suplementadas con 450 g de alimento con 25 % de pulpa de café. La suplementación se realizó desde 14 días antes de insertar el progestágeno hasta 25 días después del empadre. Se aplicaron dos dosis de prostaglandinas a intervalo de 8 días; 6 días después de la segunda aplicación se insertó el CIDR por 11 días, posteriormente a las 18 horas se inició la detección de estros, realizándose las montas. Se tomaron muestras de sangre a diferentes tiempos de la sincronización y del inicio de la gestación para determinar el estado oxidativo y la concentración de progesterona. La suplementación con pulpa de café no afectó el inicio de estros, porcentaje de estros y concentraciones de progesterona, pero disminuyó la fertilidad de 100 a 78.94 %. Antes de la inserción del CIDR las ovejas suplementadas con pulpa de café tuvieron una mayor capacidad antioxidante. La pulpa de café no modificó la oxidación lipídica; sin embargo, ésta se afectó por el tiempo de muestreo, disminuyendo después del retiro del progestágeno hasta alcanzar sus valores más bajos a los 22 días de preñez. Se concluye que aunque la suplementación con pulpa de café incrementó la capacidad antioxidante previo a la inserción del progestágeno, no es recomendable en ovejas durante la sincronización y el inicio de la gestación debido a que disminuye el porcentaje de gestación.

**Palabras clave:** *capacidad antioxidante, fertilidad, oxidación, progestágeno.*



## 6.2 Abstract

The effect of diet supplementation with coffee pulp on the oxidative state and reproductive characteristics was assessed in ewes during estrus synchronization and in early gestation. Forty ewes were distributed in two treatments: T0 (n=21) ewes fed 450 g control feed, and T1 (n=19) ewes supplemented with 450 g of feed of which 25 % was coffee pulp. Supplementation began 14 days before inserting progestagen and ended 25 days after breeding. Two dosages of prostaglandins were administered one week apart; 6 days after the second application, progestagen (CIDR) was inserted and left for 11 days. Eighteen hours later estrus detection began by mounting rams. Blood samples were taken at different times of synchronization and of early pregnancy to determine oxidative state and progesterone concentration. Supplementation with coffee pulp did not affect estrus onset, estrus percentage or progesterone concentrations, but fertility diminished from 100 to 78.95 %. The antioxidant capacity showed an effect of interaction. It was found that before insertion of progestagen, the ewes fed diets supplemented with coffee pulp had greater antioxidant capacity. Coffee pulp did not modify lipid oxidation; however, this variable was affected by sampling time, decreasing after removal of the progestagen to its lowest values 22 days into pregnancy. It is concluded that, although supplementation with coffee pulp increased antioxidant capacity before insertion of progestagen, it is not recommended for ewes during synchronization or early pregnancy since it decreases gestation rate.

**Key words:** *antioxidant capacity, fertility, oxidation, progestagen.*

### 6.3 Introducción

La sincronización de estros ha sido ampliamente utilizada con el fin de programar los partos e incrementar el número de corderos, así como introducir semen de alto valor genético al rebaño. Diferentes trabajos se han realizado con la finalidad de incrementar las tasas de gestación, siendo la progesterona la principal hormona utilizada en estos protocolos (Hashemi *et al.*, 2006; Seekallu *et al.*, 2010; Fleisch *et al.*, 2012) teniendo resultados variables al diagnóstico de preñez. Diversos autores señalan que es durante el inicio de la gestación donde se producen fallas en la fertilidad, en el reconocimiento materno y la implantación (Fthenakis *et al.*, 2012). Estas fallas han sido atribuidas a diversos factores como un inadecuado aporte de progesterona, problemas patológicos y cambios metabólicos.

El uso de progesterona exógena durante la sincronización incrementa la concentración de malondialdehído, el cual es un indicador de oxidación lipídica (Sönmez *et al.*, 2009). Además se ha reportado que los cambios metabólicos modifican el estado oxidativo de los animales, pudiendo generar estados de estrés oxidativo (See-Ling *et al.*, 2013). Al-Gubory *et al.* (2010) reportan que los cambios metabólicos durante la gestación y el aporte de progesterona pudieran ocasionar estrés oxidativo, el cual ocasiona fallas en los procesos reproductivos como daños a lípidos, proteínas, DNA, infertilidad y abortos (Al-Gubory *et al.*, 2010). El conocimiento en el estado oxidativo previo y posterior a la sincronización de estros pudiera ayudar a determinar los tiempos de suplementación con antioxidantes y traer beneficios en la mejora de las variables reproductivas, ya que se ha visto que el aporte de antioxidantes como la vitamina E antes de la inseminación incrementa la prolificidad y reduce la oxidación lipídica (Sönmez *et al.*, 2009).

La pulpa de café es un producto altamente disponible en zonas cafetaleras con alto contenido de compuestos fenólicos y gran capacidad antioxidante (Arellano *et al.*, 2011), sin embargo, contiene 0.87 % de cafeína (Ferreira *et al.*, 2001), la cual en humanos no es recomendable debido a que retarda el crecimiento fetal en el último tercio de gestación (Vik *et al.*, 2003), además de ocasionar pérdidas embrionarias en la gestación temprana (Stefanidou *et al.*, 2011). Algunos productos del procesado del café han sido probados en vacas lecheras para ver sus efectos en el metabolismo y en la producción de leche, encontrando que puede ser incluida hasta en un 15 % sin afectar la producción (Cipriano *et al.*, 2006) o ser incluida en un 25 % del concentrado en una relación 60:40 forraje:concentrado (Soares *et al.*, 2007a; Soares *et al.*, 2007b). Aunque la inclusión de los subproductos del procesado de café a las dietas de los animales ha sido viable a determinados porcentajes de su concentración, es necesario determinar su influencia en las variables reproductivas, ya que esta contiene antioxidantes naturales los cuales ayudarían a contrarrestar la lipoperoxidación, pero por el otro lado contiene cafeína la cual ha generado controversia por sus efectos en la reproducción. Los objetivos de la investigación fueron conocer el estado oxidativo de ovejas durante la sincronización de estros y al inicio de la gestación, así como la influencia de la suplementación con 25% de pulpa de café incluida en el concentrado en las características reproductivas y estado oxidativo.

#### **6.4 Materiales y métodos**

La presente investigación se desarrolló de acuerdo a las normas de ética, bioseguridad y bienestar animal del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México.

El estudio se realizó de septiembre a abril del 2014 en las instalaciones de la granja experimental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Se utilizaron 40 ovejas de 3 a 4 partos cruzas de Dorset y Suffolk, las cuales fueron alimentadas con pacas de avena y distribuidas en un diseño completamente al azar en 2 tratamientos. T0: (n=21) ovejas suplementadas con 450 g de alimento sin pulpa de café y T1: (n=19) ovejas suplementadas con 450 g de alimento con 25 % de pulpa de café. La suplementación se realizó de manera individual a las 8:00 am. Para ello las ovejas fueron alojadas en corraletas individuales de 8:00 am a 10:00 am, posteriormente se agruparon y alimentaron con pacas de avena a libre acceso. El alimento contenía 13 % de proteína cruda y 2.8 Mcal/kg de materia seca (Cuadro 6.1). Las ovejas fueron suplementadas desde el inicio del experimento cuando se inició la presincronización (14 días antes de insertar el progestágeno) hasta 25 días después del empadre (Figura 1). El tiempo de suplementación fue determinado para evaluar el efecto de la pulpa de café como flushing y hasta los 25 días en que es posible el diagnóstico de gestación. La inclusión de 25 % de pulpa de café en el concentrado fue de acuerdo a trabajos previos en Brasil ([Soares et al., 2007a](#); [Soares et al., 2007b](#)).

Cuadro 6.1. Composición de las dietas proporcionadas a las ovejas durante la sincronización y posterior al empadre

Ingrediente	T0	T1
Heno de avena %	25	0
Pulpa de café %	0	25
Maíz %	58	60
Soya %	11	9
Melaza %	5	5
Sal mineral* %	1	1
Capacidad antioxidante $\mu\text{mol}$ Trolox/g MS	54.36	92.3

\* Fósforo 17.5 %, Sodio 12.9 %, Calcio 5.6 %, Magnesio 3.4 %.

T0: Dieta testigo, T1: dieta con 25 % de pulpa de café

#### 6.4.1 Sincronización de estros

Al inicio del experimento las ovejas fueron presincronizadas con dos dosis de 0.5 mL de prostaglandinas (celosil) a intervalo de 8 días. El 100 % de las ovejas presincronizadas mostraron estro a la segunda aplicación de prostaglandinas por lo que es de suponer que tenían un cuerpo lúteo y solo las borregas ciclando fueron utilizadas. Seis días posteriores a la segunda aplicación de prostaglandina se insertó un dispositivo intravaginal impregnado con 0.3 g de progesterona (CIDR) por 11 días. Después de 18 horas de retirado el CIDR se inició la detección de estro a intervalos de 8 horas con machos equipados con un mandil protector para evitar la monta (Figura 6.1). Las montas se realizaron con 8 sementales de la misma raza con fertilidad comprobada a las 8 y 16 horas después de detectado el estro.

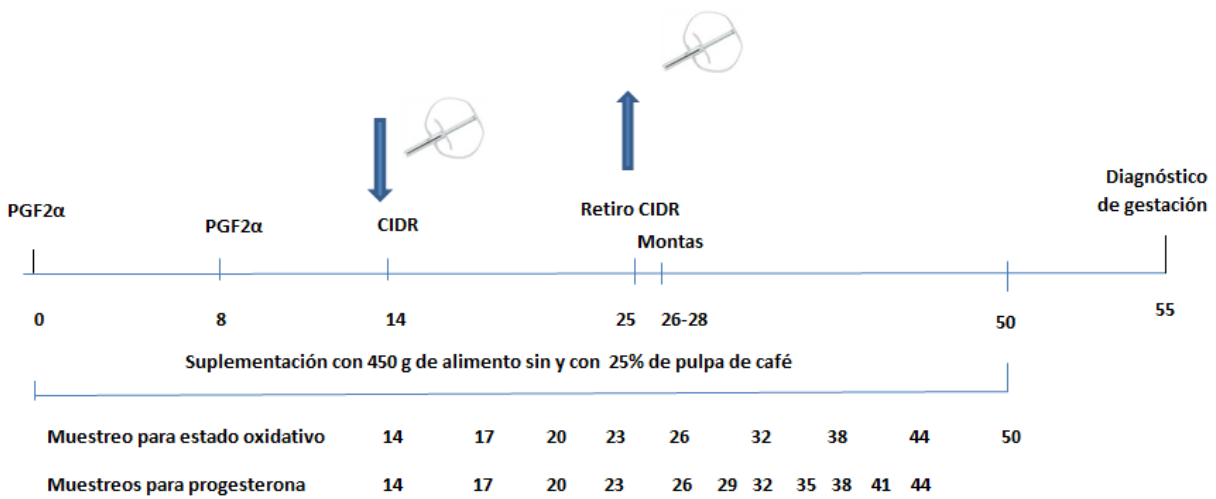


Figura 6.1. Protocolo de sincronización y muestreos para medir estado oxidativo y progesterona en ovejas testigo y con 25 % de pulpa de café en el concentrado.

### 6.4.2 Variables reproductivas

Se consideró como inicio de estro cuando las ovejas permitieron que los machos las montaran. El diagnóstico de gestación se realizó con un ultrasonido de tiempo real Sonovet 600 y un transductor lineal transrectal de 7.5 Mhz; el cual se realizó a los 30 y 60 días posteriores a las montas; para calcular el porcentaje de gestación se dividió el número de ovejas diagnosticadas preñadas entre el número de borregas a las que se les dio monta. La prolificidad se midió dividiendo el número de borregos nacidos entre el número de ovejas paridas. El peso al nacimiento de los corderos se registró dentro de las primeras 12 horas de paridas las ovejas.

### 6.4.3 Muestreos para estado oxidativo

Para medir el estado oxidativo se tomaron muestras de sangre de la vena yugular para la obtención de plasma con tubos de 5 mL con EDTA al inicio del experimento (previo a la suplementación), antes de la inserción del CIDR y cada 3 días hasta el día 26 de iniciado el experimento, el cual correspondió al día posterior de retirado el CIDR; posteriormente se muestreó cada 6 días hasta el día 50 de iniciado el experimento, tiempo en el cual terminó la suplementación con concentrado (Figura 6.1). Los tubos fueron centrifugados a 2500 g por 10 minutos a 4 °C. El plasma fue almacenado a -40 °C hasta su análisis.

### 6.4.4 Capacidad antioxidante total

Se midió usando la técnica poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) de [Benzie y Strain \(1999\)](#). Para esto se preparó una mezcla compuesta por búfer de acetato 300 mM a pH 3.6, cloruro férrico hexahidratado (Fe III) 20 mM y 2,4,6-tripiryridyl-s-triazine (TPTZ) 10 mM (disuelto en HCl 40 mM), en una relación 10:1:1 respectivamente. Se tomó 1.5 mL de mezcla y se agregaron 50 µL de plasma. Se incubó a 37 °C por 10 min y se obtuvieron sus absorbancias por espectrofotometría a 593 nm. Para la interpretación de los resultados se utilizó 6-hydroxy-2-5-7-8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid (trolox) a diferentes concentraciones (0.2 nmol-1.6 nmol/µL) como estándar para calcular los resultados.

### 6.4.5 Oxidación lipídica

Se midió mediante la prueba de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acuerdo a la técnica de [Ohkawa et al. \(1979\)](#). Para esto se preparó una mezcla de ácido tiobarbitúrico al 0.8 % y ácido acético al 20 % ajustado a pH 2.5. Se añadió 1 mL de ácido tiobarbitúrico al 0.8 %, 2 mL de ácido acético y 100 µL de plasma. Esta mezcla se mantuvo en ebullición 60 min

y posteriormente se enfriaron con agua y hielo. Se le agregaron 5 mL de n-butanol (n-butyl alcohol) y se agitó vigorosamente para luego centrifugarse por 10 min a 4000 rpm. Se recolectó el sobrenadante y se midió por espectrofotometría a 532 nm. Los resultados se calcularon utilizando diferentes concentraciones (1-8 nmol) de malondialdehído (MDA), obtenido por hidrólisis ácida a partir de 1,1,3,3- tetraethoxypropane.

#### **6.4.6 Muestreo y análisis de progesterona**

Para la medición de progesterona se colectaron muestras de sangre de la vena yugular con tubos de vacío vacutainer antes de la inserción del CIDR y cada tercer día hasta el día 44 de iniciado el experimento, el cual correspondió a un ciclo estral después de retirado el CIDR (Figura 1). Los análisis de P4 se realizaron mediante ensayo inmunoenzimático (Immunometrics, UK Ltd, 280 Muster Road, London SW6 6BQ). La sensibilidad analítica fue de  $0.13 \text{ ng mL}^{-1}$  con coeficiente de variación intra e inter ensayo de 9.59 y 13.7 %, respectivamente.

#### **6.4.7 Análisis estadístico**

Para el análisis de la capacidad antioxidante y oxidación lipídica se realizó un análisis de varianza utilizándose como efectos fijos el tratamiento y el periodo de muestreo. El modelo estadístico utilizado fue  $Y_{ijk} = \mu + T_i + M_j + T_iM_j + A_k(i) + E_{ijk}$ . Donde:

$Y_{ijk}$ = Respuesta del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo muestreo de la k-ésima repetición,  $\mu$ = Media general,  $T_i$ = Efecto del i-ésimo parto,  $M_j$ = Efecto del j-ésimo muestreo,  $T_iM_j$ = Efecto del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo muestreo,  $A_k(i)$ = Efecto del i-ésimo tratamiento anidado al k-ésimo animal y  $E_{ijk}$ = Error experimental.



Para el análisis de fertilidad y presentación de estros se realizó una prueba de chi cuadrada. Para prolificidad, se utilizó el procedimiento GENMOD del SAS. Los análisis estadísticos se realizaron con el software [SAS versión 9 \(2002\)](#).

## **6.5 Resultados**

El 100 % de las borregas de ambos tratamientos mostraron estro después de retirado el progestágeno. La inclusión de 25 % de pulpa de café en el concentrado no modificó el inicio de estro después de retirado el progestágeno, el cual fue de  $31.61 \pm 1.60$  horas para el tratamiento testigo y  $34.94 \pm 2.61$  horas para el tratamiento con la inclusión de 25 % de pulpa de café en el concentrado. El porcentaje de gestación a los 30 días disminuyó ( $P < 0.05$ ) un 21.06 % por efecto de la inclusión de pulpa de café en el concentrado; sin embargo, posterior a este tiempo no se observaron absorciones embrionarias, ya que el mismo número de ovejas diagnosticadas preñadas a los 30 días fueron las que se diagnosticaron preñadas a los 60 días (Cuadro 6.2).

Cuadro 6.2. Variables reproductivas en ovejas sincronizadas y suplementadas con 25% de pulpa de café en el concentrado

	T0	T1	Valor de P
Estro (%)	100	100	
Inicio de estro (horas)	31.61 ± 1.60	34.94 ± 2.61	0.160
Gestación a los 30 días (%)	(21/21) 100 <sup>a</sup>	(15/19) 78.94 <sup>b</sup>	0.026
Gestación a los 60 días (%)	(21/21) 100 <sup>a</sup>	(15/19) 78.94 <sup>b</sup>	0.026
Parición (%)	(21/21) 100 <sup>a</sup>	(15/19) 78.94 <sup>b</sup>	0.026
Prolificidad	1.52	1.50	0.900
Peso de la camada al nacimiento (kg)	6.85 ± 0.42	7.09 ± 0.52	0.752

T0: ovejas suplementadas con 450 g de dieta testigo, T1: ovejas suplementadas con 450 g de concentrado con 25 % de pulpa de café.

Letras diferentes en la misma hilera indican diferencia estadística significativa (P<0.05).

Existió interacción entre el tiempo de muestreo y tratamiento en la capacidad antioxidante de las ovejas. Se encontró que en el muestreo previo a la inserción del progestágeno, la capacidad antioxidante fue mayor para las ovejas suplementadas con 25 % de pulpa de café que en las ovejas del tratamiento testigo, no encontrándose diferencias entre tratamientos (P<0.05) en los demás días de muestreo. También se observó que en ambos tratamientos la capacidad antioxidante fue disminuyendo desde el retiro del progestágeno hasta los 22 días de gestación (Cuadro 6.3).

Cuadro 6.3. Capacidad antioxidante en ovejas durante la sincronización de estro con progestágeno y en las primeras semanas de gestación

Muestreo	FRAP (nmol trolox mL <sup>-1</sup> )	
	T0	T1
Antes de suplementación	221.31 ± 5.11	213.81 ± 5.39
Inserción del progestágeno	179.04 ± 4.92 <sup>b</sup>	221.21 ± 5.18 <sup>a</sup>
Tercer día del progestágeno	230.15 ± 5.11	234.39 ± 5.39
Sexto día del progestágeno	210.17 ± 5.11	223.07 ± 5.39
Noveno día del progestágeno	207.03 ± 5.38	192.83 ± 5.39
1 día posterior al retiro del progestágeno	250.27 ± 5.11	247.38 ± 6.61
4 días de gestación	239.96 ± 5.11	217.39 ± 6.61
10 días de gestación	200.23 ± 5.11	195.39 ± 6.61
16 días de gestación	186.15 ± 5.69	181.31 ± 6.61
22 días de gestación	178.87 ± 5.38	170.71 ± 7.19

T0: Ovejas suplementadas con 450 g de dieta testigo, T1: ovejas suplementadas con 450 g de concentrado con 25 % de pulpa de café.

FRAP: Poder Antioxidante de Reducción Férrica.

La lipoperoxidación no se modificó por efecto de tratamiento ( $P > 0.05$ ) pero si se cambió por el tiempo de muestreo ( $P < 0.05$ ). No se observaron cambios antes de la suplementación y durante el tiempo de sincronización; sin embargo, un día posterior al retiro del progestágeno cuando las ovejas empezaron a entrar en estro se observó un incremento en la oxidación lipídica con respecto al inicio del experimento cuando las borregas se encontraban no gestantes. No obstante posteriormente al inicio de la gestación se observó que la oxidación lipídica empezó a disminuir hasta alcanzar sus valores más bajos a los 16 y 22 días de preñez (Figura 6.2).

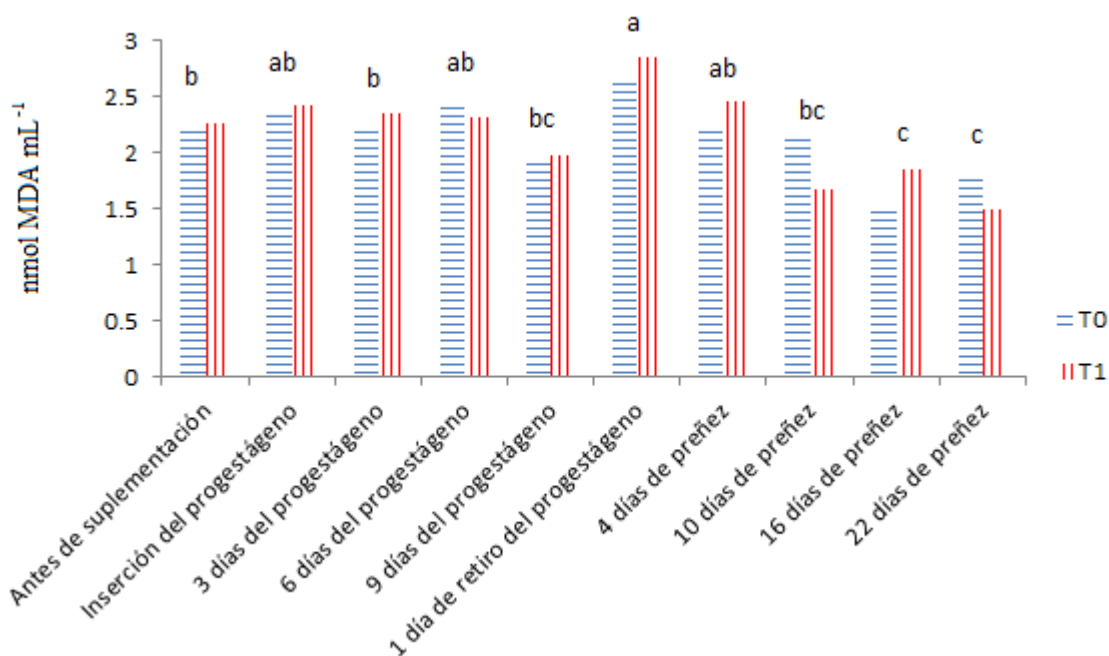


Figura 6.2. Lipoperoxidación en ovejas durante la sincronización con progestágeno y en las primeras semanas de gestación

La suplementación con 25 % de pulpa de café en el concentrado no modificó ( $P < 0.05$ ) la concentración de progesterona en ninguno de los muestreos realizados (Cuadro 6.4). Se observó que después de la inserción del CIDR en ambos tratamientos la concentración de progesterona se incrementó teniendo una caída en el muestreo del día después del retiro del progestágeno; posteriormente se incrementó al ir avanzando el tiempo de gestación.

Cuadro 6.4. Concentraciones de progesterona en ovejas suplementadas con pulpa de café

Día del muestreo	Progesterona	
	T0	T1
Inserción del CIDR	4.80 ± 1.36	3.82 ± 1.57
Tercer día con el CIDR	8.06 ± 0.46	8.21 ± 0.50
Sexto día con el CIDR	8.33 ± 0.54	9.22 ± 0.57
Noveno día con el CIDR	9.36 ± 0.60	8.46 ± 0.63
1 día posterior al retiro del progestágeno	0.47 ± 0.04	0.55 ± 0.05
4 días de gestación	0.65 ± 0.07	0.56 ± 0.09
6 días de gestación	3.23 ± 0.21	2.75 ± 0.24
9 días de gestación	6.03 ± 0.44	5.92 ± 0.54
12 días de gestación	7.76 ± 0.61	7.27 ± 0.72
15 días de gestación	8.89 ± 0.58	7.49 ± 0.69
18 días de gestación	9.38 ± 0.54	9.61 ± 0.66

T0: Ovejas suplementadas con 450 g de dieta testigo, T1: ovejas suplementadas con 450 g de concentrado con 25% de pulpa de café.

CIDR: Dispositivo vaginal liberador de progesterona.

## 6.6 Discusión

La inclusión de 25 % de pulpa de café en el concentrado no modificó el inicio de estro. El inicio de estro después de retirado el CIDR fue de 31.61 horas en el tratamiento testigo y 34.94 horas en el tratamiento con la inclusión de 25 % de pulpa de café, el cual es similar a 36.2 horas que reportan [Cleeff et al. \(1998\)](#), pero mayor que las 26.5 horas de retirado el CIDR reportado por [Godfrey et al. \(1999\)](#).

La menor fertilidad en las ovejas que consumieron 450 gramos de concentrado con 25 % de pulpa de café posiblemente es debido a la concentración de 0.87 % de cafeína en la pulpa de café ([Ferreira et al. 2001](#)). La cafeína es una metilxantina que en humanos es rápidamente

absorbida, la cual cruza la placenta. En mujeres se ha visto que el consumo de al menos 100 mg de cafeína al inicio de la gestación (6 a 12 semanas) tienen mayor riesgo de tener abortos (Cnattingius *et al.*, 2000) y de pérdidas fetales después de las 20 semanas de gestación (Hammer *et al.*, 2005). También se ha visto que la cafeína llega al fluido folicular, por lo que pudiera influir en el desarrollo folicular, aunque su mecanismo de acción exacto no está determinando (Al-Saleh *et al.*, 2010). Posterior al primer diagnóstico de preñez en el día 30 y al suspender el consumo de pulpa de café en la dieta se observó que ya no existieron pérdidas embrionarias o fetales, ya que las mismas borregas preñadas a los 30 días fueron las diagnosticadas preñadas a los 60 días y al momento de la parición.

No se encontró que la alimentación de las ovejas en los primeros 25 días de gestación con pulpa de café modificara el peso al nacimiento, al respecto Hammer *et al.* (2007) y Clausson *et al.* (2002) no encontraron diferencias en peso al nacimiento y duración de gestación entre mujeres que consumen café con cafeína y café descafeinado, mientras que Bracken *et al.* (2003) observaron que el consumo de cantidades moderadas de cafeína no reduce el peso al nacer; sin embargo, el consumo de dosis mayores de 600 mg de cafeína al día se observa una reducción del peso al nacimiento. En el presente experimento tal vez no se encontraron diferencias en el peso al nacimiento porque la suplementación con pulpa de café solo se dio durante el primer mes de gestación y el mayor crecimiento fetal se presenta durante el último tercio de gestación.

La inclusión de pulpa de café se ha evaluado a niveles de hasta 20 % en el concentrado de vacas lecheras y no se han encontrado efectos adversos en la producción y composición de la leche. (Pedraza-Beltrán *et al.*, 2012). Además, la cascara de café han sido administrada en un 25 % del concentrado en vacas lecheras alimentadas en un proporción 60:40 de forraje concentrado y se han evaluado en fermentación ruminal (Soares *et al.*, 2007a), digestibilidad, así como en la

producción y composición de leche (Soares *et al.*, 2007b); determinando que su inclusión es posible en vacas lecheras en producción. Este es el primer estudio con animales en el que se determina que la inclusión de subproductos del procesado del café como la pulpa ocasiona efectos adversos en la fertilidad. Si consideramos que cuando una vaca lechera está lactando es cuando en la mayoría de los casos se requiere que sea empadrada, o que en otros rumiantes como las ovejas y cabras se requiere que sean empadradas inmediatamente después al destete, el uso de la pulpa de café no es recomendable ya que disminuye la probabilidad que la hembra quede gestante.

El estado oxidativo se ha evaluado principalmente en el periparto, encontrándose que durante este periodo la susceptibilidad a la lipoperoxidación se incrementa (Bernabucci *et al.*, 2005). Sin embargo, poco se sabía acerca del estado oxidativo durante la sincronización de estro y el inicio de la gestación. La inclusión de pulpa de café en el concentrado incrementó la capacidad antioxidante antes de la inserción del progestágeno.

En lo que respecta al tiempo de muestreo en la capacidad antioxidante es importante recalcar que en ambos tratamientos un día posterior al retiro del progestágeno cuando empezaron las montas, la capacidad antioxidante estaba en su máxima concentración y fue disminuyendo al avanzar la gestación, aunque no existen antecedentes de la capacidad antioxidante en los primeros días de gestación, otros autores han encontrado que esta disminuye unos días antes del parto (Turk *et al.*, 2013). La oxidación lipídica siguió la misma tendencia que la capacidad antioxidante, la cual tendió a disminuir al avanzar la gestación, por lo que es de suponer que la caída en la capacidad antioxidante se debió a que los antioxidantes presentes en el animal fueron usados para disminuir la oxidación lipídica. Más estudios son necesarios para determinar la

importancia de los antioxidantes al inicio de la gestación y sus probables beneficios en las variables reproductivas.

La inclusión de pulpa de café en el concentrado no modificó la concentración de progesterona en ninguno de los muestreos, a este respecto se observó que el ácido ascórbico, el cual es un antioxidante, incrementa la concentración de progesterona en mujeres con fase lútea defectuosa (Henmi *et al.*, 2003); mientras que 20 mg de cafeína aplicada a borregas ovariectomizadas no afecta la concentración de otras hormonas reproductivas como la FSH y LH; sin embargo, la concentración de prolactina se incrementa con la administración de cafeína (Scaramuzzi *et al.*, 1996). En el presente experimento, ni los antioxidantes o la cafeína presentes en la pulpa de café modificaron la concentración de progesterona en ovejas durante la sincronización y al inicio de la gestación. Bolumar *et al.* (1997) mencionan que el consumo de cafeína puede inhibir la ovulación o función del cuerpo lúteo. En el presente experimento la pulpa de café disminuyó la fertilidad, aunque no está claro a que se debió ya que las concentraciones de progesterona, inicio de estro, porcentaje de estros y prolificidad fueron similares entre las ovejas testigo y las suplementadas con pulpa de café en el concentrado.

## **6.7 Conclusiones**

La suplementación con pulpa de café no afectó el inicio del estro, porcentaje de estros, prolificidad y concentraciones de progesterona; sin embargo, incrementó la capacidad antioxidante previo a la inserción del progestágeno, a pesar de esto no es recomendable su suplementación en ovejas durante la sincronización y al inicio de la gestación debido a que disminuye la fertilidad.



## 6.7 Literatura citada

- Al-Gubory, K. H., Fowler, P. A., Garrel, C. 2010. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42 (10):1634-1650.
- Al-Saleh, I., El-Doush, I., Griselli, B., Coskun, S. 2010. The effect of caffeine consumption on the success rate of pregnancy as well various performance parameters of in-vitro fertilization treatment. *Med Sci Monit*, 16 (12):598-605.
- Arellano, G. M., Ramírez, C. A., Mancera, T. T., Pérez, M. G., Saucedo, C. G. 2011. Antioxidant activity of fermented and non-fermented coffee (*Coffea arabica*) pulp extracts. *Food Technology and Biotechnology*, (49):374–378.
- Benzie, I. F., Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239:70–76.
- Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., Nardone, A. 2005. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88:2017–2026.
- Bracken M. B., Triche, E. W., Belanger, K., Hellenbrand, K., Leaderer, B. P. 2003. Association of maternal caffeine consumption with decrements in fetal growth. *American Journal of Epidemiology*, 157:456-466.
- Cipriano, R. F., García, R., Freitas, A. W., Lima de Souza, A., Valadares, F. S. C., Gomes, P. O., Sampaio, R. J. P., Gonçalves, T. R., Cipriano, R. G. 2006. Consumo e digestibilidade de dietas formuladas com diferentes níveis de casca de café para vacas em lactação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 35 (5):2154-2162.
- Clausson B., F. Granath, A. Ekbom, S. Lundgren, A. Nordmark, L. B. Signorello, S. Cnattingius. 2002. Effect of caffeine exposure during pregnancy on birth weight and gestational age. *American Journal of Epidemiology*, 155:429-436.
- Cleeff, J. V., Karsch, F. J., Padmanabhan, V. 1998. Characterization of endocrine events during the peri-estrous period in sheep after estrous synchronization with controlled internal drug release (CIDR) device. *Domestic Animal Endocrinology*, 15 (1):23–34.
- Cnattingius, S., Signorello, L. B., Annerén, G., Clausson, B., Ekbom, A., Ljunger, E., Blot, A. J., McLaughlin, J. K., Petersson, G., Rane, A., Granath, F. 2000. Caffeine intake and the risk of first-trimester spontaneous abortion. *The New England Journal of Medicine*, 343:1839-1845.
- Ferreira, B. A., Aguiar, A. P., Pérez, O. J., Santos, V. B., Cardoso, R. M. 2001. Fatores antinutricionais da casca e da polpa desidratada de café (*Coffea arabica L.*) armazenadas em diferentes períodos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30:1325-1331.

- Fleisch, A., Werne, S., Heckendorn, F., Hartnack, S., Piechotta, M., Bollwein, H., Thun, R., Jannet, F. 2006. Comparison of 6-day progestagen treatment with Chronogest® CR and Eazi-breed™ CIDR® G intravaginal inserts for estrus synchronization in cyclic ewes. *Small Ruminant Research*, 107:141–146.
- Fthenakis, G. C., Arsenos, G., Brozos, C., Fragkou, I. A., Giadinis, N. D., Giannenas, I., Mavrogianni, V. S., Papadopoulos, E., Valasi, I. 2012. Health management of ewes during pregnancy. *Animal Reproduction Science*, 130:198–212.
- Godfrey, R. W., J. R. Collins, E. L. Hensley, J. E. 1999. Estrus synchronization and artificial insemination of hair sheep ewes in the tropics. *Theriogenology*, 51:985-997.
- Hammer B. B., Aagaard, N. E., Vaeth, M., Henriksen, T. B., Olsen, J. 2005. Coffee and fetal death: A cohort study with prospective data. *American Journal of Epidemiology*, 162:983-990.
- Hammer B. B., Obel, C., Brink, H. T., Olsen, J. 2007. Effect of reducing caffeine intake on birth weight and length of gestation: randomised controlled trial. *British Medical Journal*, 334:1-6.
- Hashemi, M., Safadarian, M., Kafi, M. 2006. Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Ruminant Research*, 65:279–283.
- Henmi, H., Endo, T., Kitajima, Y., Manase, K., Hata, H., Kudo, R. 2003. Effects of ascorbic acid supplementation on serum progesterone levels in patients with a luteal phase defect. *Fertility and Sterility*, 80:459-461.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95:351-358.
- Pedraza-Beltran, P., Estrada-Flores, J. G., Martínez-Campos, A. R., Estrada-López, I., Rayas-Amor, A., Yong-Angel, G., Figueroa-Medina, M., Avilés, N. F., Castelán-Ortega, O. A. 2012. On-farm evaluation of the effect of coffee pulp supplementation on milk yield and dry matter intake of dairy cows grazing tropical grasses in central Mexico. *Tropical Animal Health Production*, 44:329–336.
- SAS, (Statistical Analysis System). 2002. SAS Proceeding Guide, versión 9. SAS Institute. Cary NC. USA.
- Scaramuzzi R. J., Downing, J. A., Williamson, S., Pollard, I. 1997. The circulating concentrations of FSH, LH and prolactin in the oestradiol-implanted ovariectomized ewe treated with caffeine. *Animal Reproduction Science*, 45:273-282.
- Seekallu, S. V., Toosi, B. M., Zeigler, A., Rawlings, N. C. 2010. Effects of estradiol and progesterone on circulating LH and FSH secretion, and ovarian antral follicle growth in anestrus ewes. *Small Ruminant Research*, 91:178–185.

- See-Ling, L., Sirajudeen, K. N. S., Jan, J. M. H. 2013. Increase in maternal adiposity and poor lipid profile is associated with oxidative stress markers during pregnancy. *Preventive Medicine*, 57:S41–S44.
- Soares, O. A., Souza, C. J. M., Valadares, F. S. C., Assis, A. J., Monteiro, A. T. R., Navajas, R. L., Dos Santos, P. D., Soares, O. G. 2007a. Substituição do milho pela casca de café ou de soja em dietas para vacas leiteiras: comportamento ingestivo, concentração de nitrogênio uréico no plasma e no leite, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana<sup>1</sup>. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36:205-215.
- Soares, O. A., Souza, C. J. M., Valadares, F. S. C., Assis, A. J., Araújo, T. R. M., Diniz, V. R. F., Dos Santos, P. D., Soares, O. G. 2007b. Substituição do milho por casca de café ou de soja em dietas para vacas leiteiras: consumo, digestibilidade dos nutrientes, produção e composição do leite<sup>1</sup>. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36:1172-1182.
- Sönmez, M., Bozkurt, T., Türk G., Gür S., Kizil, M., Yüce A. 2009. The effect of vitamin E treatment during preovulatory period on reproductive performance of goats following estrous synchronization using intravaginal sponges. *Animal Reproduction Science*, 114:183–192.
- Stefanidou, E. M., Caramellino, L., Patriarca, A., Guido, M. 2011. Maternal caffeine consumption and sine causa recurrent miscarriage. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 158 (2):220-4.
- Turk, R., Podpečan, O., Mrkun, J., Kosec, M., Flegar-Mestrić, Z., Perkov, S., Starič, J., Robić, M., Belić, M., Zrimsek, P. 2013. Lipid mobilization and oxidative stress as metabolic adaptation processes in dairy heifers during transition period. *Animal Reproduction Science*, 141 (3):109-115.
- Vik, T., Bakketeig, L. S., Ulla, T. K., Lund-Larsen, K., Jacobsen, G. 2003. High caffeine consumption in the third trimester of pregnancy: gender-specific effects on fetal growth. *Pediatric and Perinatal Epidemiology*, 17:324–331.

## VII. CONCLUSION GENERAL

La pulpa de café es un producto con gran disponibilidad en zonas cafetaleras el cual contiene antioxidantes como el ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido gálico, además de cafeína. El ensilado de pulpa de café incrementa el contenido de proteína cruda, fibra detergente ácida, fibra detergente neutra y lignina y disminuye el ácido cafeico; sin embargo, la capacidad antioxidante permanece sin cambios, por lo que la pulpa de café sin ensilar o ensilada muestra gran capacidad antioxidante. La inclusión de pulpa de café ensilada y posteriormente deshidratada al 16% en la dieta de ovinos en engorda, incrementa la capacidad antioxidante de las dietas y no afecta la ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y pH ruminal. Así mismo la inclusión de pulpa de café en la dieta de los ovinos incrementa el rendimiento de canal y disminuye la grasa de rumen e intestinos. En lo que respecta a ovejas reproductoras la capacidad antioxidante disminuye en el segundo mes de gestación y a los 5 días de lactancia, tiempo en el cual se observan los máximos valores en la glutatión peroxidasa. La vitamina C tiene una gran disminución en su concentración al tercer mes de gestación y otra a los 5 días de lactancia. La suplementación con pulpa de café en ovejas durante la sincronización y al inicio de la gestación incrementa la capacidad antioxidante previo a la inserción del progestágeno, a pesar de esto no es recomendable su suplementación en ovejas durante la sincronización y al inicio de la gestación debido a que disminuye la fertilidad, aunque si puede utilizarse hasta el 16 % en las dietas de ovinos de engorda debido a que no modifica las variables productivas e incrementa el rendimiento de canal.