

# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

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

## **CAMPUS MONTECILLO**

**POSGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GANADERÍA**

### **ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE BORREGOS Y TORETES: RESPUESTA A LA ADICIÓN DE TANINOS EN LA DIETA**

**HORTENCIA BARRAGÁN GONZÁLEZ**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTORA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO**

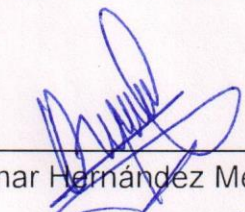
2015

La presente tesis titulada "**Estabilidad oxidativa de la carne de borregos y toretes: respuesta a la adición de taninos en la dieta**", realizada por el alumna: **Hortencia Barragán González**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:


DOCTORA EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GANADERÍA

CONSEJO PARTICULAR

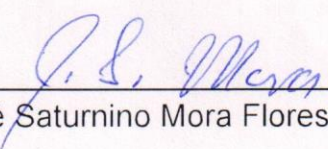
CONSEJERO

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Omar Hernández Mendo

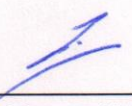
ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
Dr. David Hernández Sánchez

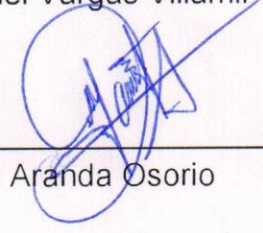
ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
Dr. José Saturnino Mora Flores

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Luis Manuel Vargas Villamil

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Gilberto Aranda Osorio

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio de 2015

## **ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE BORREGOS Y TORETES: RESPUESTA A LA ADICIÓN DE TANINOS EN LA DIETA**

Hortencia Barragán González, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2015

### **RESUMEN**

Se evaluó la respuesta en la estabilidad oxidativa en lípidos y proteína de carne de toretes y borregos alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta. Se utilizaron muestras del músculo *Longissimus dorsi* provenientes de animales de tres experimentos diferentes. En el primer experimento se emplearon 36 toretes *B. taurus* x *B. indicus*, alojados en 4 grupos (9 animales cada uno), distribuidos en uno de cuatro tratamientos: T1, dieta base; T2, dieta base con extracto de Quebracho; T3, dieta base con 2500 UI de vitamina E; y T4, pastoreo. En el segundo experimento se utilizaron 36 corderos Pelibuey, alojados en 4 grupos (9 animales cada uno), distribuidos en uno de cuatro tratamientos: T1, dieta base; T2, dieta base con heno de Cocuite; T3, dieta base con heno de Guasimo; y T4, dieta base con extracto de Quebracho. En el tercer experimento, se usaron 28 corderos Pelibuey, agrupados en 4 grupos (7 animales cada uno), distribuidos en uno de cuatro tratamientos: T1, dieta base; T2, dieta base con 1000 UI de vitamina E; T3, dieta base con 1.5% de taninos, T4, dieta base con 2.5% de taninos. La fuente de taninos en los tres experimentos fueron el extracto de Quebracho, heno de Guasimo y Cocuite. En los tres experimentos se utilizó un Diseño Completamente al Azar. Los resultados se analizaron con el PROC GLM, y las medias con la prueba de Tukey. Las variables evaluadas en cada uno de los experimentos fueron pH, capacidad de retención de agua (CRA), oxidación proteica (DNPH, 2,4-dinitrofenilhidrozina), oxidación lipídica (TBARS, ácido tiobarbitúrico), actividad antioxidante (FRAP-capacidad de reducción férrica del plasma, y DPPH-2,2-

difenil-1picirilhidrazil) y perfil de ácidos grasos. Las evaluaciones fueron hechas a 0, 1, 7, 14, 21 y 28 días de maduración de la carne. De manera general, en los tres experimentos hubo diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos en todas las variables evaluadas. Al día 28 de maduración, las muestras de carne con taninos presentaron menor oxidación proteica y lipídica. Los valores promedio para DNPH fueron 0.194, 0.193, y 0.196 Nm/H/mg proteína, contra 0.418, 0.412 y 0.421 Nm/H/mg proteína para el testigo, en experimento uno, dos y tres, respectivamente. Los valores promedio para TBARS fueron 2.45, 4.22 y 6.71 mg/MDA/kg de carne, contra 13.16, 6.97 y 8.19 mg/MDA/kg de carne para el testigo, en experimento uno, dos y tres, respectivamente. En tanto que la actividad antioxidante – FRAP y DPPH, fueron 1.31, 1.08 y 1.08, y 11.62, 1.53, y 1.19 de  $\mu\text{M}$  Trolox/100g de carne, comparadas con 0.88, 0.79 y 0.788, y 0.418, 0.708, y 0.482  $\mu\text{M}$  Trolox/100g de carne para el testigo, en experimento uno, dos y tres, respectivamente. Respecto al perfil de ácidos grasos, la concentración de ácido oleico y linoleico fueron mayores ( $P < 0.05$ ) en las muestras de carne que contenían taninos. Así mismo, el pH y CRA igualmente fue mejor para las muestras tratadas con antioxidantes comparadas con las muestras testigo, en los tres experimentos. Los resultados demuestran que ofrecer Cocuite y Guasimo, así como extracto de Quebracho, como fuente de taninos en la dieta de rumiantes mejoran la vida en anaquel de la carne y retarda la oxidación lipídica y proteica. Además, contribuyen al incremento de los principales ácidos grasos insaturados de la carne. En la práctica, estos resultados podrían extrapolarse, pero no sin antes hacer un balance en los costos de producción, ya que en este caso, el heno de Cocuite y Guasimo fueron trasladados del trópico a la zona templada, que en términos de costos podría resultar impráctico.

**Palabras clave:** bovinos, ovinos, taninos, carne, estabilidad oxidativa.

# OXIDATIVE STABILITY OF LAMB AND BEEF MEAT: RESPONSE TO THE ADDITION OF TANNINS TO DIETS

Hortencia Barragán González, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2015

## ABSTRACT

The response in the oxidative stability was evaluated in lipid and protein meat from steers and lambs fed with different sources and concentrations of tannins in their diets. Samples were used from the Longissimus dorsi muscle taken from animals from three different experiments. In the first experiment, 36 Cebu x Brown Swiss, kept in 4 groups (9 animals each), distributed in one of four treatments: T1, base diet; T2, base diet with Quebracho extract; T3, base diet with 2500 UI of vitamin E; and T4, grazing. In the second experiment, 36 Pelibuey sheep were kept in 4 groups (9 heads each), distributed in one of four treatments: T1, base diet; T2, base diet with Cocuite hay; T3, base diet with Guasimo hay; and T4, base diet with Quebracho extract. The third experiment used 28 Pelibuey sheep kept in 4 groups (7 heads each), distributed in one of four treatments: T1, base diet; T2, base diet with 1000 UI of vitamin E; T3, base diet with 1.5% de tannins, T4, base diet with 2.5% of tannins. The sources of tannins in all three experiments were the Quebracho extract, Guasimo and Cocuite hay. A completely randomized design was used in all three experiments. The results were analyzed with the PROC GLM, and the averages, with Tukey's test. The variables evaluated in each one of the experiments were pH, water retention capacity (WRC), protein oxidation (DNPH, 2,4-dinitrophenylhydrazine), lipid oxidation (TBARS, thiobarbituric acid), antioxidant activity (FRAP-ferric reducing ability of plasma, and DPPH-2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil) and fatty acid profile. Evaluations were

done at 0, 1, 7, 14, 21, and 28 days of aging meat. In general terms, in the three experiments there was a significant difference ( $P < 0.05$ ) between treatments in all variables evaluated. At day 28 of aging meat, the meat samples with tannins showed less protein and lipid oxidation. The average values for DNPH were 0.194, 0.193, and 0.196 Nm/H/mg protein, against 0.418, 0.412, and 0.421 Nm/H/mg protein for the control, in experiments one, two, and three, respectively. The average values for TBARS were 2.45, 4.22, and 6.71 mg/MDA/kg of meat, against 13.16, 6.97, and 8.19 mg/MDA/kg of meat for the control, in experiments one, two, and three, respectively. Meanwhile, antioxidant activity – FRAP and DPPH, were 1.31, 1.08 and 1.08, and 11.62, 1.53, and 1.19 of  $\mu\text{M}$  Trolox/100g of meat, compared to 0.88, 0.79, and 0.788, and 0.418, 0.708, and 0.482  $\mu\text{M}$  Trolox/100g of meat for the control, in experiments one, two, and three, respectively. Regarding the profile of fatty acids, the concentration of oleic acid and linoleic acid were greater ( $P < 0.05$ ) in the meat samples that contained tannins. Likewise, the pH and WRC were also higher in the samples treated with antioxidants than in control samples, in all three experiments. Results show that including Cocuite and Guasimo, as well as Quebracho extract, as tannin sources in the diets of ruminants improves the shelf life of meat and delays oxidation in lipids and proteins. They also contribute to the increase of the main unsaturated fatty acids in meat. In practice, these results could extrapolate, although not without a balance in production costs, since in this case, the Cocuite and Guasimo hay were transferred from the tropics to temperate zones, which could result impractical, in terms of costs.

**Key words:** bovines, sheep, tannins, meat, oxidative stability.

## AGRADECIMIENTOS

*In Memoriam* al Dr. José Mario de la Garza y María Dolores Olivares porque ambos salvaron de alguna forma mi vida física y espiritual.

A Dios por brindarme una segunda oportunidad para vivir, amar y luchar por mis sueños.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de Doctorado.

Al Colegio de Postgraduados por permitirme realizar mis estudios, así como las fuentes de financiamiento para realizar mi proyecto de investigación como son LPI-7 (Inocuidad, Calidad de Alimentos y Bioseguridad) y al Fideicomiso 2009-167304. Al Dr. Mauricio Velázquez Martínez y al M.C Marco Antonio Ayala Monter por la donación de las muestras de carne utilizadas en este trabajo.

Al Laboratorio de Biotecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma Metropolitana Campus Iztapalapa, en especial a la Dra. Edith Ponce Alquicira y a la M.C Isabel Hernández Hernández por su apoyo y asesoría para la realización de las determinaciones de laboratorio.

Al Dr. Omar Hernández Mendo por su asesoramiento de esta tesis, amistad y apoyo.

A la Dra. María Esther Ortega Cerrilla por su invaluable amistad, apoyo y calidad humana que la caracteriza.

A mi Consejo Particular, por las atinadas observaciones para mejorar este escrito.

A mis padres el Coronel J. Jesús Barragán Olivares y Benedicta González Browdtn, por su ejemplo, fortaleza, comprensión, cuidados, amor incondicional y sobre todo por recordarme día a día que soy la luz de sus ojos. Los amo con toda mi alma!.

De la misma forma a mis maravillosos hermanos: María Dolores, Jesús y José Luis.

A mis amigos Ángela, Isauro, Anayeli, Ana Laura, Leodan, Leonor, Wendoli, Yuri, Danilo Mauricio, Brenda, Enrique, Rosita, Claudia, y Gerardo por su apoyo y amistad.

Y por último, al amor de mi vida *Rubén Anibal Calderón Marroquín*, porque llegó en el momento en que más lo necesitaba, por su entrega, paciencia y sobre todo por su enorme amor. Te amo mi pelos!.

*Es maravilloso Señor, tener los brazos abiertos cuando hay tantos mutilados. Mis ojos ven, cuando hay tantos sin luz. Mi voz que canta, cuando hay tantas que enmudecen. Mis manos que trabajan cuando hay tantas que mendigan. Mis piernas que caminan, cuando hay tantos desvalidos. Es maravilloso Señor, volver a casa cuando hay tantos que no tienen a donde ir. Es maravilloso amar, vivir, sonreír, soñar, cuando hay tantos que lloran, odian y se revuelven en pesadillas y tantos que mueren antes de nacer.*

*Es maravilloso Señor, tener un Dios en quien creer cuando hay tantos que no tienen consuelo ni tienen fe. Y es maravillosos señor sobre todo, tener tan poco que pedir y tanto y tanto que agradecer.*

*Con todo mi amor para quienes han caminado a mi lado en esta vida*

*Horte*



# CONTENIDO

Pag.

<b>1. INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
1.1. Planteamiento del problema .....	3
<b>2. LOS TANINOS Y SU PAPEL EN LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE .....</b>	<b>4</b>
2.1. Introducción .....	4
2.2. Formación de radicales libres .....	5
2.3. Estrés Oxidativo .....	6
2.4. Antioxidantes .....	7
2.5. Los taninos .....	8
2.6. Digestión de taninos .....	9
2.7. Los taninos y la respuesta animal.....	11
2.8. Los taninos como antioxidantes de la carne .....	12
2.9. Literatura citada.....	14
<b>3. ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE TORETES ALIMENTADOS CON TANINOS EN LA DIETA .....</b>	<b>21</b>
3.1. Resumen.....	21
3.2. Abstract .....	23
3.3. Introducción .....	25
3.4. Materiales y métodos .....	26
3.4.1. Localización .....	26
3.4.2. Obtención de muestras .....	27
3.4.3. Tratamientos y diseño experimental .....	27
3.4.4. Variables evaluadas .....	29
3.5. Resultados y discusión .....	35
3.6. Conclusiones .....	48
3.7. Literatura citada.....	49
<b>4. ESTABILIDAD OXIDATIVA EN CARNE DE BORREGOS PELIBUEY A DIFERENTE FUENTES Y CONCENTRACIÓN DE TANINOS EN LA DIETA .....</b>	<b>56</b>
4.1. Resumen.....	56
4.2. Abstract .....	58
4.3. Introducción .....	60
4.4. Materiales y métodos .....	61
4.4.1. Experimento 1 .....	61

4.4.2.	<b>Experimento 2</b> .....	63
4.4.3.	<b>Variables evaluadas</b> .....	64
4.5.	<b>Resultados y discusión</b> .....	70
4.6.	<b>Conclusiones</b> .....	86
4.7.	<b>Literatura citada</b> .....	87
5.	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES</b> .....	95

## LISTA DE CUADROS

Pag.

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales.....	28
Cuadro 2. Medias de pH de carne de toretes alimentados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.....	36
Cuadro 3. Capacidad de retención de agua (mL de agua retenida/100 g de carne) en carne de toretes suplementados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.....	38
Cuadro 4. Valores de TBARS (mg/MDA/kg de carne) en carne de toretes alimentados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.....	40
Cuadro 5. Valores de DNPH (Nm/H/mg proteína) en carne de toretes suplementados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.....	42
Cuadro 6. Valores de la actividad antioxidante – FRAP ( $\mu$ M Trolox /100g de carne) en carne de toretes suplementados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta. ....	44
Cuadro 7. Valores de la actividad antioxidante – DPPH, en carne de toretes suplementados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta. ....	46
Cuadro 8. Perfil de ácidos grasos de carne de toretes suplementados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta. ....	47
Cuadro 9. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales.....	62
Cuadro 10. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales.....	64
Cuadro 11. Medias de pH de carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta. ....	72

Cuadro 12. Medias de la capacidad de retención de agua (mL de agua retenida/100 g de carne) en carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta.....	74
Cuadro 13. Medias de TBARS (mg/MDA/kg de carne) en carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta. ....	76
Cuadro 14. Medias de DNPH (Nm/H/mg proteína) en carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta. ....	79
Cuadro 15. Valores de la actividad antioxidante – FRAP ( $\mu$ M Trolox /100g de carne), en carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta.....	81
Cuadro 16. Valores de la actividad antioxidante – DPPH ( $\mu$ M Trolox /100g de carne), de carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta.....	82
Cuadro 17. Perfil de ácidos grasos (%) de carne ovinos suplementados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en dieta.....	85

## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Uno de los problemas comunes en la industria cárnica, además de ser asociada el consumo de carnes rojas con enfermedades cardíacas, obesidad, diabetes y ciertos tipos de cáncer, por su alto contenido de ácidos grasos saturados, es la corta vida en anaquel de la carne, por la oxidación lipídica que sufren particularmente los ácidos grasos insaturados. Por lo que estrategias para prevenir este daño en la carne mediante el empleo de antioxidantes, básicamente vitamina E y selenio, han sido desarrolladas con resultados positivos (Liu *et al.*, 1995; McDowell *et al.*, 1996). No obstante, ello representa un costo extra a la producción, de manera que los taninos, compuestos polifenólicos (Heinonen, 2007; Armenteros *et al.*, 2012), provenientes de gran variedad de plantas, se presentan como alternativas. Tradicionalmente a los taninos se les considera como compuestos anti-nutricionales porque provocan disminución en el consumo de materia seca, situación que solo ocurre cuando las dosis son mayores a 5% de la MS de la dieta (Beauchemin *et al.*, 2007), por la capacidad de estar ligados a la fibra (López *et al.*, 2004; McAllister *et al.*, 2005), que consecuentemente provocan disminución en la ganancia diaria de peso (Priolo *et al.*, 2000). Contenidos entre 1 y 2% de taninos condensados en la dieta de bovinos incrementan la producción animal (Krueger *et al.*, 2010), debido a la capacidad de estos compuestos de formar complejos tanino-proteína, que protegen a la proteína, y que más tarde funcionan como proteína de sobrepaso. Sin embargo, no todas las fuentes de taninos tienen los mismos efectos en la respuesta animal, ello depende de la concentración en la planta y del suministro del forraje que contiene los taninos. En este sentido, se han utilizado extractos de extracto de quebracho y granada en ovinos (Priolo *et al.*, 2000; Larraín *et al.*, 2008; Suresh *et al.*, 2010; Velázquez, 2013), extractos de romero y orégano en bovinos (Estévez *et al.*, 2007; Sánchez-Escalante *et al.*, 2006), extractos de té verde en aves y cerdos (Tang *et al.*, 2001), y

extracto de castaña en conejos (Liu *et al.*, 2009), todos ellos, cuyo contenido de taninos es alto, como parte de la dieta integral de dichos animales, con el objetivo de usarlos como antioxidantes, retrasando así la oxidación lipídica. Esto sugiere entonces, que el uso de árboles forrajeros cuyo contenido de taninos es alto, podrían indudablemente arrojar resultados positivos si se usan como parte integral en la dieta de animales, y bien podrían dar un valor agregado a la carne, además, de reducir costos de producción. Ante este escenario, y tomando ventaja de la enorme diversidad biológica del país, especialmente en el trópico, donde existen muchas especies entre herbáceas, arbustivas y arbóreas, no solo con alto potencial forrajero por su alto contenido de proteína (12 a 30 %), pero con funciones extras por su contenido de taninos condensados o proantocianidinas (López *et al.*, 2004), como son el Guasimo (*Guazuma ulmifolia*) y Cocuite (*Gliricidia sepiumson*), entre los más comunes (López *et al.*, 2004).

Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antioxidante de taninos en lípidos y proteínas de carne de toretes y borregos en crecimiento, a través de la adición de diferentes fuentes y niveles de taninos en la dieta, mediante la inclusión de harinas de heno de Guasimo y Cocuite, así como extracto de Quebracho, en la dieta de los animales.

### 1.1. **Planteamiento del problema**

A nivel mundial se ha relacionado las enfermedades cardiacas, obesidad, diabetes y ciertos tipos de cáncer, al consumo de carnes rojas, por su alto contenido de ácidos grasos saturados, aspecto que perjudica de algún modo, a la industria cárnica, especialmente, hoy día, en que el patrón de consumo de alimentos por el humano ha cambiado a productos más sanos e inocuos. Si bien ello es cierto, especialmente cuando se abusa en el consumo de ese tipo de grasas, también es cierto que la carne contiene ácidos grasos insaturados, que en contraparte, y en particular los omega 3, se asocian a la prevención de enfermedades cardiovasculares y cáncer, con la desventaja de que éstos se oxidan fácilmente. A este respecto, la vitamina E y selenio, en diversas modalidades, se han usado en la alimentación animal, con el objetivo de retardar la oxidación lipídica de la carne, donde dichos ingredientes actúan a nivel de membrana celular mejorando el color y la estabilidad oxidativa, con la consecuente desventaja de elevar los costos de producción. Ante este panorama, y dada la presión de la sociedad por minimizar los padecimientos de salud antes mencionados, así como los elevados costos de producción en la industria cárnica, se han buscado alternativas en un contexto de sustentabilidad, donde aprovechar los recursos localmente disponibles, pueden ser alternativas viables. En este sentido, se presenta a los taninos, como antioxidantes naturales, provenientes de diversas plantas, como alternativa a la vitamina E y selenio, y que bien pueden arrojar resultados positivos si se usan como parte integral en la dieta de animales, dando un valor agregado a la carne, además, de reducir costos de producción.

## 2. LOS TANINOS Y SU PAPEL EN LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE

### 2.1. Introducción

Los procesos negativos oxidativos en la carne se ven favorecidos por los cambios bioquímicos *post mortem*, con la oxidación de la mioglobina que conduce a la decoloración de la carne y la oxidación de lípidos que contribuyen al desarrollo de sabores desagradables, especialmente durante el almacenamiento. Consecuentemente, la posibilidad de extender la vida útil de la carne con estrategias dietéticas *ante mortem* podría mejorar la estabilidad oxidativa de la carne retrasando el deterioro oxidativo (Andújar *et al.*, 2009). En este sentido, componentes como la vitamina E y selenio han sido utilizados en la dieta de animales con el objetivo de alargar la vida en anaquel de la carne (Liu *et al.*, 1995). Sin embargo, ello representa un costo extra, por lo que otras alternativas como los taninos se presentan como fuentes de antioxidantes naturales; especialmente si éstos son adicionados a la dieta a través del forraje (Priolo *et al.*, 2000; Vasta *et al.*, 2009). Los taninos son compuestos polifenólicos y poseen la capacidad de formar complejos reversibles o irreversibles con las proteínas fundamentalmente, pero también con sustancias como celulosa, hemicelulosa, y pectinas, mostrando también propiedades de actividad antioxidantes como potentes agentes captadores de radicales libres o cationes metálicos (Vasta *et al.*, 2012); propiedad que puede favorecer y prolongar la vida útil de la carne. La adición de taninos a las dietas animales como antioxidantes naturales ha demostrado que mejora la estabilidad de color en carne comparada con un concentrado libre taninos. Luciano *et al.* (2012), Sánchez-Escalante *et al.* (2006) y Estévez *et al.* (2007) encontraron disminución de la actividad oxidante en carne de bovino cuando incluyeron extractos vegetales, cuyo contenido de taninos es alto, como el romero y orégano. De la misma forma, Suresh *et al.* (2010), encontraron que la oxidación lipídica disminuyó cuando usaron extractos de granada en el alimento de ovinos, extracto de té verde en



pollo y cerdo (Tang *et al.*, 2001), y extracto de castaña en conejos (Liu *et al.*, 2009). Este panorama sugiere el enorme potencial que pueden tener los taninos en la alimentación, con el objetivo de mejorar la estabilidad oxidativa de la carne a través del uso de ingredientes no convencionales. Por tanto, el objetivo de esta revisión es discutir la importancia de los taninos y su uso como antioxidantes en la carne para consumo humano, considerando la forma como estos taninos ejercen su efecto.

## 2.2. Formación de radicales libres

Los radicales libres son moléculas o átomos que presentan, al menos, un electrón no apareado, y son en su mayoría muy reactivos y tienden a asociarse a un electrón libre, son altamente tóxicos y capaces de reaccionar con diversas moléculas orgánicas, mecanismos a través de los cuales provocan daños a nivel celular y tisular, causando alteraciones funcionales (Quintanar y Calderón, 2009). Cuando los radicales libres reaccionan tienden a reducirse, es decir, sustraen un electrón de átomos o moléculas estables, a las cuales oxida, con el fin de alcanzar su propia estabilidad (Rendón, 2007). Una vez que el radical libre ha conseguido el electrón que necesita para aparear a su electrón libre, la molécula estable que pierde el electrón se oxida y deja a otro electrón desapareado, convirtiéndolo a su vez en un radical libre, iniciándose y después propagándose de la misma manera, generando así una reacción en cadena (Hansberg, 2002).

De los radicales libres más comunes se encuentra el átomo de hidrogeno ( $H\cdot$ ), triclorometil ( $CCl_3$ ), superóxido de oxígeno ( $O_2\cdot^-$ ), hidroxilo ( $OH\cdot$ ), tiol ( $RS\cdot$ ), peroxil ( $RO_2\cdot$ ), alquil ( $RO\cdot$ ) y óxido de nitrógeno ( $NO\cdot$ ), a los cuales se les refiere comúnmente como especies reactivas al oxígeno (ROS) (Quintanar y Calderón, 2009), y se refiere tanto a los radicales que se derivan del oxígeno ( $O_2\cdot^-$  y  $OH\cdot$ ,  $RO_2\cdot$ ,  $RO\cdot$ ,  $HO_2\cdot$ ), como a los que no derivan de éste ( $H_2O_2$ ,  $HOCl$ ,  $O_3$ ,

1O<sub>2</sub>, ONOO<sup>-</sup>), y que son elementos y compuestos que se generan durante el metabolismo. En los tejidos, los ROS indican que los radicales libres producidos en cantidades moderadas en los organismos pueden ser neutralizados por el propio sistema (Quintanar y Calderón, 2009). En general, una agresión oxidante de baja intensidad hace que una célula pueda resistir posteriormente condiciones más oxidantes. Sin embargo, las especies reactivas al oxígeno que se producen y llegan a escapar a los sistemas de defensa producen daños irremediables al ADN, proteínas, carbohidratos y lípidos (Rendón, 2007).

### 2.3. Estrés Oxidativo

El estrés oxidativo es un desbalance entre la producción de especies reactivas al oxígeno (ROS) y los sistemas de defensa antioxidante, enzimáticos o no, debido a carencia de vitaminas y minerales, procesos inflamatorios, deficiencia del sistema inmune, situaciones de ejercicio intenso y factores ambientales que impiden al organismo controlar la reacción en cadena de las ROS (Cervantes *et al.*, 2005). Este desbalance interviene en procesos como la lipoperoxidación de las membranas y organelos celulares y en la peroxidación de ácidos nucleicos. Las ROS se producen continuamente en el organismo como parte del metabolismo, por lo que existe un sistema complejo de defensa que permite un balance entre la producción de las mismas y la activación de la función de los antioxidantes, como las vitaminas E y A, que permiten proteger del daño oxidativo (Rendón *et al.*, 2007). Sin embargo, el organismo es vulnerable al daño que producen las ROS bajo ciertas condiciones, como cuando los sistemas de defensa son ineficientes, en dietas mal balanceadas, desnutrición o enfermedades que no permitan la absorción de antioxidantes o la adecuada síntesis de enzimas que destruyan a las ROS y reparen el daño (Valko *et al.*, 2006). En otras circunstancias, también son vulnerables al daño oxidativo, por ejemplo una alta exposición al O<sub>2</sub> por periodos largos, o en la exposición a sustancias que

pueden actuar como prooxidantes, como es el caso del exceso de Fe, o cuando los tejidos se dañan ya sea por circunstancias físicas, por enfermedades o procesos inflamatorios, (Valko *et al.*, 2006).

#### 2.4. **Antioxidantes**

Los antioxidantes pueden formar parte de enzimas que directa o indirectamente protegen a las células contra los efectos adversos de numerosas drogas y sustancias (Blokhina *et al.*, 2003). Tienen gran capacidad para disminuir la carga de radicales libres en el organismo, que rompen a las moléculas en tres diferentes fases: iniciación, propagación y terminación, teniendo acción en cualquiera de las fases y desempeñan una función importante para la prevención de numerosas patologías como problemas cardiovasculares, tumorales, enfermedades degenerativas e incluso el proceso de envejecimiento (Rendón, 2007). Durante los procesos de oxidación, los sistemas biológicos previenen los daños mediante una gran cantidad de mecanismos, dentro de los cuales los antioxidantes tienen una importante función en forma de enzimas (superóxido dismutasa, Se-catalasa, Se- glutatión peroxidasa) o como compuestos biológicos no-enzimáticos. Los antioxidantes enzimáticos como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa están involucradas en la remoción de  $O_2^-$  y  $H_2O_2$ , y algunos iones metálicos como el Fe, Cu y Zn pueden secuestrar e inhibir la acción incontrolada de  $O_2$ . Los antioxidantes no enzimáticos se unen a los radicales libres y los transfieren de sitios donde pueden provocar daños, como de la membrana hacia el citoplasma, o los transforman en radicales menos agresivos (Quintanar y Calderón 2009). Ejemplos de este tipo de antioxidantes son la Coenzima Q (CoQ), el a-tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), carotenos y ácido lipoico, entre otros. Recientemente se explora este potencial en los taninos (Priolo y Vasta, 2007), provenientes de diferentes plantas, como antioxidantes naturales.

## 2.5. Los taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos que se encuentran en una amplia variedad de plantas con potencial forrajero (Priolo y Vasta, 2007). Existen dos tipos de taninos, los *hidrolizables* (poliesteres de ácido gálico y varios azúcares individuales) y los *condensados* (polímeros de flavonoides), aunque puede haber otros taninos derivados de la combinación de estos dos tipos básicos (Ben Salem *et al.*, 2005; Armenteros *et al.*, 2012).

Los taninos constituyen uno de los principales grupos de compuestos fitoquímicos de los alimentos, se han descrito más de 8,000 compuestos con estructuras químicas muy diferentes, desde fenoles sencillos a compuestos altamente polimerizados. Se ha sugerido que hasta el 50% de los polifenoles de la dieta se encuentran asociados a la fibra, entre los que destacan los compuestos de alto peso molecular, taninos condensados y taninos hidrolizables, así como compuestos fenólicos de bajo peso molecular asociados a los polisacáridos de la pared celular de plantas, como es el caso de los feruloatos (Burggraaf *et al.*, 2008). En general, los compuestos polifenólicos tienen una limitada biodisponibilidad *in vivo*, dependiendo de la estructura química del polifenol, son absorbidos a través del epitelio intestinal (Romero, 2000). Estos polifenoles son metabolizados en el enterocito o a nivel hepático a derivados metilados, glucuronidados, sulfatados, o combinaciones de los mismos (metilglucurónidos, sulfoglucurónidos, diglucurónidos,).

## 2.6. Digestión de taninos

Los taninos pueden tener efecto positivo o negativo, dependiendo del tipo de tanino, sea éste hidrolizable o condensado, que se relacionan directamente con el efecto inhibitorio de la microflora ruminal. Por ejemplo, los taninos condensados contenidos en la vacuola de la célula viva son liberados en el proceso de masticación por el animal, uniéndose entonces a las proteínas vegetales, a los polisacáridos y permaneciendo parte de ellos como taninos libres (Theodoridou *et al.*, 2010). Los taninos poseen la capacidad de formar complejos reversibles o irreversibles con las proteínas fundamentalmente, pero también con sustancias tales como celulosa, hemicelulosa, y pectinas, mostrando también propiedades de actividad antioxidantes como potentes agentes captadores de radicales libres o cationes metálicos (Vasta *et al.*, 2009), propiedad que puede favorecer y prolongar la vida útil de la carne.

En su paso a través del sistema digestivo de los rumiantes, los taninos libres son los únicos susceptibles en sufrir degradación o absorción (Pérez-Maldonado y Norton, 1996). Una vez que los taninos condensados han pasado por el rumen, las secreciones gástricas a pH 2.5, y secreciones pancreáticas y biliares a pH 8-9, disocian el complejo tanino-proteína (Pérez-Maldonado y Norton, 1996). Al respecto, Sell *et al.* (1985) reportaron que alimentar a pollos con sorgo alto en taninos, redujo la profundidad de las criptas y el espesor de pared del tejido duodenal, lo que influye en la absorción de nutrientes. Para el caso particular de los taninos hidrolizables, se ha detectado toxicidad derivado de su ingesta, ya que durante el metabolismo microbiano y la digestión gástrica los convierten en metabolitos de bajo peso molecular de fácil absorción, algunos de los cuales son tóxicos, provocando gastroenteritis hemorrágica, necrosis del hígado y daño de riñón (Romero, 2000). Por otro lado, el metabolismo del ácido tánico en animales produce derivados del ácido gálico, principalmente 4-metoxi galato (4-O metílico de

ácido gálico) y pirogálico, un metabolito del ácido gálico y se pueden encontrar en heces y orina (Potter y Fuller, 1998). Una forma de reducir la toxicidad del ácido tánico es a través de la suplementación de colina y metionina, donde se supone la capacidad de estos nutrientes para actuar como donantes de grupos metilo, los cuales se requieren en el proceso de metoxilación del ácido gálico durante su desintoxicación en el hígado.

El efecto antinutritivo de los taninos depende de su capacidad para ligarse a las proteínas dietarias, a polímeros como la celulosa, hemicelulosa, pectina y ciertos minerales, con el resultado de retardar o deteriorar el proceso digestivo (Romero, 2000). En el primer caso se refiere básicamente a taninos ligados a proteína, y en el segundo, taninos ligados a fibra.

Los taninos son capaces de formar complejos con las proteínas, por lo que no es sorprendente que también se unan a las enzimas teniendo implicaciones en su actividad biológica (Jansman, 1993). En 1979, Griffiths (1979) reportó que la actividad de la tripsina, quimiotripsina y  $\alpha$ -amilasa se redujo después de la adición de un tanino extraído del haba. Dicha inhibición fue reversible después de la adición de polivinilpirrolidona, como potente aglutinante de taninos. Sin embargo, Hervás *et al.* (2003) refieren que los taninos pertenecen al grupo que impide la utilización de la proteína y deprime la digestión, como los inhibidores de proteasas, las saponinas, las lectinas, entre otros. Esto sugiere que el efecto de la unión tanino-proteína dependerá del tipo y concentración de taninos en la dieta en que la gran cantidad de grupos hidroxilo fenólicos que poseen los taninos los hace reactivos, proporcionándoles numerosos puntos de anclaje susceptibles de formar puentes de hidrogeno, siendo este el motivo por el que forman asociaciones reversibles con otras moléculas, demostrando mayor afinidad por las proteínas debido a la fuerte tendencia a formar puentes de hidrogeno entre los grupos hidroxilo de los

taninos y el grupo carbonilo de los péptidos (MsSweeney *et al.*, 2001; Hervás, 2000., Hervás *et al.* 2003). Provenza *et al.* (2007) y Waghor (2008) señalan que una vez ingerido el alimento hay un mecanismo basado en la identificación de una consecuencia negativa post-prandial seguida del consumo de taninos, y el subsecuente desarrollo de una aversión condicionada.

## 2.7. Los taninos y la respuesta animal

Los taninos pueden ser benéficos o perjudiciales en la alimentación del ganado, dependiendo de la fuente, tipo y concentración. Alonso-Díaz *et al.* (2010) y Theodoridou *et al.* (2010), encontraron que el factor importante para diferenciar el efecto en la cantidad de taninos en la dieta depende de la dosis. Por ejemplo, dosis superior a 5% en la dieta, los taninos pueden provocar disminución en el consumo de materia seca, llegando a detenerse el consumo voluntario, después de una semana de ofrecimiento (Sandoval-Castro *et al.*, 2005). Sin embargo, en contenidos entre el 1 y el 4% de taninos condensados en base seca, se ha encontrado que se incrementa la producción animal, debido a la capacidad de estos compuestos para formar complejos tanino-proteicos, que protegen la proteína, reduciendo la degradación de esta en el rumen, debido al enlace reversible (entre taninos y proteínas) y que más tarde funcionan como proteína de sobrepaso, ayudando así a sincronizar la liberación de nutrientes en el rumen, y consecuentemente, incrementar el flujo de proteína metabolizable al duodeno, dando como resultado un mejor desempeño animal (Priolo y Vasta, 2007). Esta aparente respuesta positiva a los taninos está probablemente en función de las características del enlace del tanino, en específico, con la proteína endógena (Kariuki y Norton, 2008). La unión es principalmente por enlaces hidrofóbicos y de hidrógeno de una forma pH reversible, que depende del peso y estructura molecular del tanino y la proteína (Theodoridou *et al.*, 2010). Los taninos enlazados a proteínas dietarias, aparentemente tienen una contribución cuantitativa en la mejora del

suministro de N al intestino delgado. La conclusión es que las concentraciones moderadas de taninos condensados pueden ser empleados para incrementar la eficiencia en la digestión de proteína (Min *et al.*, 2003).

Se han sugerido tres mecanismos principales para explicar el efecto negativo de la concentración de taninos en consumo voluntario: reducción de la palatabilidad, lenta digestibilidad y desarrollo de aversiones condicionadas (MsSweeney *et al.*, 2001). Una adaptación importante del metabolismo ruminal para contrarrestar los efectos antinutritivos de los taninos del forraje, involucran la degradación microbiana de estos compuestos. A su vez, se ha reportado que los taninos no reducen el flujo de proteína microbiana hacia el intestino delgado, y proveen una ventaja protegiendo a la proteína dietaria de la digestión en el rumen, incrementando así, el suplemento total de proteína por absorción en el intestino delgado (Dentinho *et al.*, 2014).

Los taninos condensados de varias plantas forrajeras han demostrado ofrecer ventajas para rumiantes, que han resultado en incremento de producción de leche, crecimiento de lana, rangos de ovulación, así como aminorar el riesgo de inflamación y reducción de los parásitos internos (Burggraaf *et al.*, 2008). Lo anterior debido probablemente a la acción de los taninos concentrados en el incremento de los aminoácidos esenciales absorbidos por el intestino delgado, sitio principal de absorción de éstos, en rumiantes. Para el caso de la reducción de parásitos internos, los taninos concentrados tienen una acción de inactivación sobre ellos (Dentinho *et al.*, 2014).

## 2.8. Los taninos como antioxidantes de la carne

Los taninos como antioxidantes han logrado posesionarse en el interés de la investigación, dado que interrumpen el proceso de oxidación por vía radicalaria de los lípidos, proteínas, ADN y



enzimas (Mesa *et al.*, 2013). Manzoor *et al.* (2014), reportan que existe gran diversidad de extractos de plantas ricas en polifenoles que frenan los procesos de oxidación de la carne, tanto cruda como cocida, entre ellas se encuentran el romero (*Rosmarinus officinalis*), ortiga (*Urtica dioica*), jengibre (*Zingiber officinale*), menta (*Mentha spicata*), y ruda (*Melissa officinalis*), entre otros. Diversos autores han encontrado mejoras en la calidad de la carne, como Bastida *et al.* (2009), quienes redujeron la oxidación lipídica en carne cocida de cerdo utilizando 30g/kg extracto de algarroba (*Ceratonia siliqua*). En esta misma especie animal, Wojciak *et al.* (2011), encontraron una reducción de la actividad oxidante y lipídica empleando 10% de extracto de romero. Alp y Asku (2010), redujeron de la misma forma la oxidación lipídica de la carne de res molida utilizando 200 ppm extracto de ortiga. Estudios en ovinos como los llevados a cabo por Petron *et al.* (2006) y Luciano *et al.* (2012), han demostrado que es posible lograr estabilizar la actividad antioxidante en la carne fresca cuando los animales son finalizados en pastoreo.

## 2.9. Literatura citada

- Alonso-Díaz, M.A., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., and Hoste, H. 2010. Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: a friendly foe; *Small Ruminant Research*, 89:164-173.
- Alp, E. and Asku, M. 2010. Effects of water extract of *Urtica dioica* L. and modified atmosphere packaging on the shelf of ground beef . *Meat Science*, 86:468-473.
- Andújar, G., Pérez, D., y Venegas, O. 2009. Química y bioquímica de la carne y los productos cárnicos. Instituto de investigaciones para la industria aliemntaria Cuba. 121 p
- Armenteros M., Ventanas S., Morcuende D., Estévez M., and Ventanas, J. 2012. Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos. *Eurocarne*, 202: 63-73.
- Bastida, S.F., Olivero, R., Pérez, L., Ruiz, B., and Jiménez, F. 2009. Antioxidant activity of carob fruit extracts in cooked pork meat system during chilled and frozen storage. *Food Chemistry*, 116:748-754.
- Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Martinez, T.F., McAllister, T.A. 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions. *Jornal of Animal Science*, 85:1990-1996.
- Ben Salem, H., Nefzaoui, A., Makkar H.P.S., Hochlef H., Ben Salem I., and Ben Salem, L. 2005. Effect of early experience and adaptation period on voluntary intake, digestion, and growth in Barbarine lambs given tannin-containing (*Acacia cyanophylla*, Lindl. Foliage) or tannin-free (oaten hay) diets. *Animal Feed Science and Technology*, 122:59-77.
- Blokhina, O., Virolainen, E., and Fagerstedt, K.V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot (Lond)*. 91: 179-194.

- Burggraaf, V., Waghorn, G., Woodward, S., and Thom, E. 2008. Effects of condensed tannins in white clover flowers on their digestion in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 142:44-58.
- Cervantes, M.P., Calderón, J.V., Albores, A., and Muñoz, J.L. 2005. Copper increases the damage to DNA and proteins caused by reactive oxygen species. *Biology Trace Elements Research*, 103: 229-248.
- Dentinho, M.T.P., Belo A.T., and Bessa, R.J.B. 2014. Digestion, ruminal fermentation and microbial nitrogen supply in sheep fed soybean meal treated with *Cistus ladanifer L.* tannins. *Small Ruminants Research*, 119:57-64.
- Estévez, M., Ventanas, S. and Cava, R. 2007. Oxidation of lipids and proteins in frankfurters with different fatty acid compositions and tocopherol and phenolic contents. *Food Chemistry*, 100: 55-63.
- Griffiths, D.W. 1979. The inhibition of digestive enzymes by extracts of field bean (*Vicia faba*). *Journal Science Food Agriculture*, 30: 458-462.
- Hansberg, W. 2002. Biología de las especies de oxígeno reactivas. *Mensaje Bioquímico*, 26: 19-54.
- Heinonen, M. 2007. Antioxidant activity and antimicrobial effect of berry phenolics: a Finnish perspective-Review. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51:684-691.
- Hervás, G., Frutos, P., Serrano, E., Mantecón, A. R., and Giráldez, F.J. 2000. Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. *Journal Agriculture Science*, 135: 305-310.

- Hervás, G., Frutos, P., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R., Álvarez del Pino, M.C. 2003. Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. *Animal Feed Science Technology*, 109: 65-78.
- Krueger, W.K., Gutierrez-Bañuelos, H., Carstens, G.E., Min, B.R., Pinchak, W.E., Gomez, R.R., Anderson, R.C., Krueger, N.A., Forbes, T.D.A. 2010. Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass traits in steers fed a high-grain diet. *Animal Feed Science Technology*, 159: 1-9.
- Jansman, A.J. 1993. Tannins in feedstuffs for simple to mixed animals. *Nutrition and Food Research Review*, 6: 209-236.
- Kariuki, I.W., and Norton, B.W. 2008. The digestion of dietary protein bound by condensed tannins in the gastro-intestinal tract of sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 142:197-209.
- Larraín R.E., Schaefer D.M., Richards M.P., Reed J.D. 2008. Finishing steers with based on corn, high-tannin sorghum or a mix of both: Color and lipid oxidation in beef. *Meat Science*, 79: 656-665.
- Liu, Q., Lanari, M.C., and Schaefer, D.M. 1995. A review of vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*, 73:3131-3140.
- Liu, W.L., Gai, F.B., Gasco B.L., Brugiapaglia, B.A., Kai, J.C., Guo, C., Ming, T.J., and Zoccarato, B.I. 2009. Effects of chestnut tannins on carcass characteristics, meat quality, lipid oxidation and fatty acid composition of rabbits. *Meat Science*, 83:678-683.
- López, J., Tejada, I., Vazquez, C., De Dios, G. y Shimada, A. 2004. Condensed tannins in humid tropical fodder crops and their *In vitro* biological activity part 1. *Journal of Science Food Agriculture*, 84: 291-294.

- Luciano, G., Biondi, L., Pagano, R. I., Scerra, M., Vasta, V., López, A., Valenti, B., Lanza, M., Priolo, A., and Avondo, M. 2012. The restriction of grazing duration does not compromise lam meat color and oxidative stability. *Meat Science*, 92: 30-35.
- Manzoor, A., Sowriappan, J., and Shabir, M. 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat products. *Meat Science*, 98:21-33.
- McAllister, T.A., Martinez, T., Bae, H.D., Muir, A.D., Yanke, L.J., Gones, G.A. 2005. Characterization of condensed tannins purified from legume forages: Chromophore production, protein precipitation and inhibitory effects on cellulose digestion. *Journal Chemic Ecologic*, 31: 2049-2068.
- McDowell, L. R., S. N. Williams, N. Hidirolou, C. A. Njeru, G. M. Hill, L. Ochoa, and N. S. Wilkinson. 1996. Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science*, 60: 273-196.
- Mesa, M.A., Gaviria, C.A., Cardona, F., Sáez-Vega, J., Trujillo, S., y Rojano, B. 2013. Actividad antioxidante y contenido de fenoles de algunas especies del genero *Calophyllum*. *Archivos Científicos Ciencias Alimentarias*. Univesidad de Antioquia. Medellin Colombia.
- Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T., and McNabb, W.C. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 106:3-19.
- MsSweeney, C.S., Palmer, B., McNeill, D.M., and Krause, D.O. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences on ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91:83-93.
- Pérez-Maldonado, A., and Norton, B. 1996. Digestion of 14C-labelle condensed tannins from *Desmodium intortum* in sheep and goats. *Britis Journal of Nutrition*, 76:501-513.

- Petron, M., Raes, K., Claeys, E., Lourenco, M., Fremaut, D., and De Smet, S. 2006. Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. *Meat Science*, 75:737-745.
- Potter, D.K., and Fuller, H.L. 1998. Metabolic fate of dietary tannins in chickens. *Journal of Nutrition*, 96:187-191.
- Priolo, A., and Vasta, V. 2007. Effects of tannin-containing diets on small ruminant meat quality. *Journal Animal Science*, 6: 527-530.
- Priolo, A., Waghor, G.C., Lanza, M., Biondi, L., and Pennisi. 2000. Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: effects on lamb growth performance and meat quality. *Journal Animal Science*, 78:810-816.
- Provenza, F.D., Villalba, J.J., Haskell, J., MacAdam, J.W., Griggs, T.C., Wiedmeier, R.D. 2007. The Value to Herbivores of Plant Physical and Chemical Diversity in Time and Space. *Crop Science*, 47: 382-398.
- Quintanar, E.M.G., y Calderón, S.J.V. 2009. La Capacidad Antioxidante Total. Bases y Aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*, 28:98-101.
- Rendón, A. 2007. El daño oxidativo y la respuesta antioxidante durante la intoxicación con plomo en una población expuesta y los efectos del tratamiento con antioxidantes. Tesis de doctorado. Departamento de Bioquímica CINVESTAV. 103p
- Rendón, A., Cerbón, J., Maldonado, M., Quintanar, M. A., and Calderón, J.V. 2007. Vitamin-E reduces the oxidative damage on delta-aminolevulinic dehydratase induced by lead intoxication in rat erythrocytes. *Toxicol In Vitro*, 21: 1121-1126.

- Romero, L. 2000. Efecto del pastoreo con ovinos sobre la concentración de taninos condensados en *Gliricidia sepium* en el trópico seco. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Posgrado interinstitucional en ciencias pecuarias; Universidad de Colima. P: 14-34.
- Sánchez-Escalante, A., Djenane, D., Torrescano, G., Beltrán, J. A. and Roncalés, P. 2006. Antioxidant action of borage, rosemary, oregano, and ascorbic acid in beef patties packaged in modified atmosphere. *Journal of Food Science*, 68: 339-344.
- Sandoval-Castro, C.A., Lizarraga-Sanchez, H. L., and Solorio-Sánchez, F.J. 2005. Assessment of tree fodder preference by cattle using chemical composition, in vitro gas production and in situ degradability. *Animal Feed Science Technology*, 24:277-289.
- Sell, D.R., Reed, W.M., Chrissman. C.L. and Rogler, J.C. 1985. Mucin excretion and morphology of the intestinal tract as influenced by sorghum tannins. *Nutrition Reports International*, 1:369 -374.
- Suresh, K., Devatkal and Naveena, B. M. 2010. Effect of salt, kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground goat meat during refrigerated storage. *Meat Science*, 85:306-311.
- Tang, S., Kerry, J.P., Sheehan, D., Buckley, D.J., and Morrissey, P.A. 2001. Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. *Food Research International*, 34: 651-657.
- Theodoridou, K., Aufrere, J., Andueza, D., Pourrat, J., Le Morvan, A., Stringano, E., Mueller-Harvey, I., and Baumont, R. 2010. Effects of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on in vivo and in situ digestion in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 160:23-38.

- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncola, J., Izakovic, M., and Mazura, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. ELSEVIER. *Chemico-Biological Interactions*, 160: 1-40.
- Vasta, V., Mele, M., Serra, A., Luciano, G., and Lanza, M. 2009. Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. *Journal of Animal Science*, 87:2674-2684.
- Vasta, V., Pagano, R., Luciano, G., Scerra, M., Caparra, P., and Foti, F. 2012. Effect of morning vs. afternoon grazing on intramuscular fatty acid composition in lamb. *Meat Science*, 90:93-98.
- Velázquez, M.M. 2013. Taninos de forraje de árboles y su efecto en la producción y calidad de la carne de bovinos y ovinos. Tesis Doctoral. Colegio de postgraduados Campus Montecillos, Texcoco, Edo de México. 98p
- Waghorn, G. 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-Progress and challenges. *Anim. Feed Science Technology*, 147:116-139.
- Wojciak, K., Dolatowski, Z., and Okon, A. 2011. The effect of water plant extracts addition on the oxidative stability of meat products. *Acta Scientiarum Poloniarum. Technología Alimentaria*, 10:175-188.



### 3. ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE TORETES ALIMENTADOS CON TANINOS EN LA DIETA

#### 3.1. Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antioxidante de taninos en lípidos y proteína de la carne de toretes al incluir extracto de Quebracho como fuente de antioxidantes naturales en su dieta. Se emplearon 36 muestras de músculo *longissimus dorsi*, provenientes de 36 toretes *B. taurus* x *B. indicus*, distribuidos homogéneamente en 4 grupos de 9 animales cada uno, y alojados en corraletas individuales, en un diseño completamente al azar. Cada grupo fue asignado aleatoriamente a uno de cuatro tratamientos: T1, dieta base; T2, dieta base con 3% de taninos; T3, dieta base con 2500 UI de vitamina E; y T4, pastoreo. La fuente de taninos fue el extracto de Quebracho. Las variables evaluadas fueron pH, capacidad de retención de agua (CRA), oxidación proteica (DNPH, 2,4-dinitrofenilhidrozina), oxidación lipídica (TBARS, ácido tiobarbitúrico), actividad anti-oxidante (FRAP-capacidad de reducción férrica del plasma, y DPPH-2,2-difenil-1picrilhidrazil) y perfil de ácidos grasos. El diseño experimental fue completamente al azar. Los resultados se analizaron usando el PROC GLM de SAS, y la comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey. Hubo diferencias ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos en todas las variables evaluadas. Al día 28 de maduración, el pH, DNPH y TBARS, promediaron 6.92, 0.418 Nm/H/mg proteína, y 13.157 mg/MDA/kg de carne, para las muestras de carne del tratamiento testigo contra el promedio de los otros tratamientos, 5.65, 0.183 Nm/H/mg proteína, y 2.45 mg/MDA/kg de carne, respectivamente. Mientras que los valores para CRA, fueron 2.43 vs 11.10 de mL de agua retenida/100g de carne, para las muestras de carne testigo contra el promedio del resto de los tratamientos, respectivamente. En el mismo orden, el promedio para FRAP y DPPH fue 0.882 contra 1.27 de  $\mu\text{M}$  Trolox/100g de carne, y 0.418 contra 16.55 de  $\mu\text{M}$  Trolox/100g de carne, para muestras testigo en comparación con el promedio del resto de los tratamientos,

respectivamente. De los ácidos grasos, el oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) fueron los más abundantes, con valores promedio de 39.52 y 4.25%, respectivamente, en las muestras de carne con vitamina E, taninos y forraje, contra 24.40 y 2.38% para el testigo, respectivamente. Se concluye que adicionar 3% de taninos condensados en la dieta de bovinos en finalización, afecta positivamente la estabilidad oxidante de la carne al disminuir la oxidación lipídica y proteica, alargando así la vida en anaquel de la carne. Los resultados sugieren que incluir taninos como antioxidantes naturales en la dieta de bovinos, ejercen el mismo efecto antioxidante que la vitamina E, y finalización de animales en pastoreo. Lo anterior implica que el uso de especies arbóreas con presencia de taninos, son una alternativa al uso de vitamina E como antioxidantes en carne de bovinos.

**Palabras clave:** bovinos, antioxidantes, taninos, estabilidad oxidativa.

## **OXIDATIVE STABILITY OF THE MEAT OF YOUNG BULLS FED WITH DIETS INCLUDING TANNINS**

### **3.2. Abstract**

The aim of this study was to evaluate the antioxidant activity of tannins in lipids and protein in the meat of young bulls when including Quebracho extract as a source of natural antioxidants in their diets. Thirty six samples of Longissimus dorsi muscle from 36 young *B. taurus* x *B. indicus* were used, distributed homogenously in 4 groups of 9 heads each, and kept in individual pens, in a completely randomized design. Each group was randomly assigned to one of four treatments: T1, base diet; T2, base diet with 3% of tannins; T3, base diet with 2500 UI of vitamin E; and T4, grazing. The source of tannins was Quebracho extract. The variables evaluated were pH, water retention capacity (WRC), protein oxidation (DNPH, 2,4-dinitrofenilhidrozina), lipid oxidation (TBARS, thiobarbituric acid), antioxidant activity (FRAP- ferric reducing ability of plasma, and DPPH-2,2-diphenyl-1picrilhidrazil) and fatty acid profile. The experimental design was completely randomized. Results were analyzed using the PROC GLM by SAS, and the comparison of averages was carried out with Tukey's test. There were differences ( $P < 0.05$ ) between treatments in all the variables evaluated. On day 28 of maturation, pH, DNPH and TBARS, averaged 6.92, 0.418 Nm/H/mg protein, and 13.157 mg/MDA/kg of meat, for the meat samples of the control treatment against the average of the other treatments, 5.65, 0.183 Nm/H/mg protein, and 2.45 mg/MDA/kg of meat, respectively. Meanwhile, the values for WRC were 2.43 vs 11.10 mL of retained water /100g of meat for the samples of control meat against the average of the rest of the treatments, respectively. In the same order, the average for FRAP and DPPH were 0.882 versus 1.27 de  $\mu\text{M}$  Trolox/100g of meat, and 0.418 versus 16.55 of  $\mu\text{M}$  Trolox/100g of meat for control samples in comparison to the average of the other treatments, respectively. Of the fatty acids, the oleic (C18:1) and linoleic acids (C18:2) were the most

abundant, with average values of 39.52 and 4.25%, respectively, in the meat samples with vitamin E, tannins and grazing, against 24.40 and 2.38% for the control, respectively. Our conclusion is that adding 3% of condensed tannins in the diet of bovines in finalization, has a positive effect on the oxidant stability of meat, since it reduces lipid and protein oxidations, extending the meat's shelf life. Results suggest that including tannins as natural antioxidants in the diets of bovines has the same antioxidant effects as vitamin E, and finalization of grazing animals. This implies that the use of arboreal species with tannins is an alternative to the use of vitamin E as antioxidants in bovine meat.

**Key words:** bovines, antioxidants, tannins, oxidative stability.

### 3.3. **Introducción**

El consumo de carnes rojas se ha vinculado al padecimiento de enfermedades cardíacas, obesidad, diabetes y ciertos tipos de cáncer, por su alto contenido de ácidos grasos saturados. Sin embargo, la carne también contiene ácidos grasos insaturados, que en contraparte, y en especial los omega 3, se asocian a la prevención de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Nuernberg *et al.*, 2005), con la desventaja de que éstos se oxidan fácilmente, por lo que es necesario buscar alternativas para retrasar dicha oxidación, y así alargar la vida en anaquel de los productos cárnicos. Al respecto, durante años se han desarrollado diversas estrategias para prevenir el deterioro oxidativo de la carne mediante el empleo de antioxidantes, básicamente vitamina E y selenio, con resultados positivos, donde dichos ingredientes actúan a nivel de membrana celular mejorando el color y la estabilidad oxidativa (Liu *et al.*, 1995; McDowell *et al.*, 1996). No obstante los resultados positivos, ello representa un costo agregado a la producción, por lo que recientemente se han explorado otras alternativas con el uso de antioxidantes naturales, como son extractos de romero y orégano en carne bovina (Estévez *et al.*, 2007; Sánchez-Escalante *et al.*, 2006), extractos de granada en ovinos (Suresh *et al.*, 2010), té verde en pollo y cerdo (Tang *et al.*, 2001), y extracto de castaña en conejos (Liu *et al.*, 2009). Todos ellos con alto contenido en taninos, compuestos fenólicos, cuyo efecto ha mostrado tener propiedades antioxidantes frente a la oxidación de lípidos y proteínas en carne (Heinonen, 2007; Armenteros *et al.*, 2012). Esto sugiere entonces, que el uso de árboles forrajeros cuyo contenido de taninos es alto, podría indudablemente arrojar resultados positivos si se usan como parte integral en la dieta de animales, y bien podrían dar un valor agregado a la carne, además de reducir costos de producción. De la misma manera, Priolo *et al.* (2000), Larraín *et al.* (2007; 2008), y Velázquez (2013) incluyeron extracto de quebracho (*Schinopsis balansea*) en dieta para borregos, por su efecto antioxidante

en la carne dado su alto contenido en taninos, con resultados positivos. Por su parte, Tieko *et al.* (2002) reportaron mejoras en calidad de la carne de cabras, con aumento en la vida de anaquel al disminuir la oxidación lipídica cuando se incluyó 2.5 y 5.0% de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) como fuente de taninos. De la misma forma, Aouadi *et al.* (2014), encontraron que ofreciendo follaje de romero y artemisa alba (*Artemisia herba alba*) *ad libitum* a borregos, durante 95 días no hubo oxidación lipídica, con alta actividad antioxidante al día 7 de maduración.

Este panorama sugiere que los forrajes con alto contenido de taninos pueden funcionar como antioxidantes naturales cuando son suministrados a los animales a través de sus dietas. Sin embargo, la mayoría de estos estudios han sido llevados a cabo en ovinos, haciendo casi nula la información al respecto en bovinos, o al menos no ha sido reportada. Por tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antioxidante de taninos en lípidos y proteínas de carne de toretes a través de la adición del extracto de quebracho (*Schinopsis balansea*) como fuente de taninos en la dieta.

### **3.4. Materiales y métodos**

#### **3.4.1. Localización**

El estudio se llevó a cabo de abril de 2012 a diciembre de 2013, en los laboratorios de Nutrición Animal del Colegio de Postgraduados y de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, ubicados en Montecillo, Texcoco, Edo de México (19° 21' LN, 98° 53' LO, 2250 msnm) y Distrito Federal (19°15'N, 99°10'W, 2780 msnm), respectivamente.

### 3.4.2. Obtención de muestras

Se utilizaron muestras del músculo *Longissimus dorsi*, provenientes de 36 toretes (*B. taurus* x *B. indicus*) en finalización, con peso promedio inicial de  $412.7 \pm 20$  kg, y final de  $518.6 \pm 33.5$  kg. Detalles de los animales son descritos por Velázquez (2013), y se resume en que dichos toretes fueron distribuidos homogéneamente en 4 grupos de 9 animales cada uno, y alojados en corraletas individuales, en un Diseño Completamente al Azar, en la Granja Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado de México. Los animales fueron sacrificados en un rastro TIF. Las muestras de carne se almacenaron en una cámara de refrigeración a 4°C, durante 1, 7, 14, 21 y 28 días, en bolsas de polietileno cerradas al vacío (empacadora al vacío Torrey<sup>R</sup> modelo EVD-2C76), para el respectivo proceso de maduración. A medida que se cumplían los respectivos tiempos de maduración establecido, se tomaron submuestras para análisis de oxidación. El resto de las muestras se almacenaron a -28°C, para el posterior análisis del perfil de ácidos grasos.

### 3.4.3. Tratamientos y diseño experimental

Cada grupo de animales fue asignado aleatoriamente a uno de cuatro tratamientos: T1, dieta base (DB); T2, dieta base con 3% de extracto de quebracho (base seca); T3, dieta base con 2,500 UI de vitamina E por animal/día (DVE); y T4, pastoreo (DP). La dieta base fue elaborada de acuerdo a los requerimientos que marca el NRC (2000) (Cuadro 1). El grupo de animales en pastoreo fueron alojados en una pradera de Orchard (*Dactylis glomerata*) en el Campo Experimental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en su sistema de pastoreo continuo. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó un diseño completamente al azar, usando el procedimiento PROC GLM del programa SAS (SAS, 2010) y la prueba de Tukey para la separación de medias. El modelo utilizado fue  $Y_{ij} = \mu + T_i + P_j + E_{ij}$ , donde Y es la variable de

respuesta en el tratamiento  $i$  –ésimo,  $\mu$  es la media general,  $T_i$  es el efecto del  $i$ -ésimo tratamiento ( $i=1, 2, 3, 4$ ),  $P_j$  es el efecto del  $j$ -ésimo día de maduración, y  $E_{ij}$  es el error experimental.

**Cuadro 1. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales.**

Ingredientes, %	Dietas <sup>1</sup>		
	DB	DVE	DEQ
Sorgo	44.00	44.00	40.00
Barredura de pan	24.00	24.00	24.00
Rastrojo maíz	22.10	22.10	20.10
Pasta de soya	8.00	8.00	9.00
Extracto quebracho	0.00	0.00	4.00
Sales minerales <sup>2</sup>	1.50	1.50	1.50
Grasa animal	0.00	0.00	1.00
Buffer <sup>3</sup>	0.40	0.40	0.40
Aditivo alimenticio (Zilmax) <sup>4</sup>	0.14	0.14	0.14
Composición química			
Materia seca, % <sup>5</sup>	93.59	93.59	93.37
EN de mantenimiento, Mcal/kg <sup>6</sup>	1.83	1.83	1.81
EN de ganancia, Mcal/kg <sup>6</sup>	1.19	1.19	1.18
PC, % <sup>5</sup>	12.89	12.89	12.78
FDN, % <sup>5</sup>	36.71	36.71	34.92
FDA, % <sup>5</sup>	16.67	16.67	15.83
Extracto etéreo, % <sup>6</sup>	5.08	5.08	6.03
Ca, % <sup>6</sup>	0.49	0.49	0.47
P, % <sup>6</sup>	0.46	0.46	0.45

<sup>1</sup>DB= Dieta base; DVE= Dieta con vitamina E, similar a DB solo se adicionó 5 gr de vitamina E por animal/día; DEQ= dieta complementada con extracto de quebracho; EN= energía neta; PC= proteína cruda; FDN= fibra detergente neutro; FDA= fibra detergente ácido. <sup>2</sup> Ca, 19.6%; P, 2.1%; K, 1%; Cl, 10%; Mg, 0.7%; Na, 7%; S, 0.11%; Co, 10ppm; Cu, 500ppm; I, 64ppm; Fe, 815ppm; Mn, 1280ppm; Se, 20ppm; Zn, 1800ppm. <sup>3</sup> Ca, 9%; Mg, 10.8%; Na, 10%. <sup>4</sup>Zilmax (Clorhidrato de Zilpaterol 4.8%). <sup>5</sup>Datos de análisis en laboratorio. <sup>6</sup>Datos de NRC.



#### 3.4.4. Variables evaluadas

##### ***pH de la carne***

Para analizar el pH de la carne se pesaron 10 g de carne, y se colocaron en un vaso de ensaye en donde se le añadieron 100 mL de agua destilada, y se molió en una licuadora durante un minuto. La suspensión de carne se filtró en manta de cielo para eliminar el tejido conectivo, y posteriormente el pH se leyó en un potenciómetro, lavando el electrodo cuidadosamente con agua destilada entre mediciones (Guerrero *et al.*, 2002). Las mediciones se hicieron por triplicado.

##### ***Capacidad de retención de agua***

Para determinar la capacidad de retención de agua (CRA), 10 g de carne fueron finamente picados, la cual se dividió en dos submuestras de 5 g, mismas que se colocaron en un tubo de ensayo dentro de una centrífuga. A cada tubo se le añadió 8 ml de solución de NaCl 0.6 M, y se agitó con una varilla de vidrio durante un minuto. Posteriormente, los tubos se colocaron en baño de hielo durante 30 minutos, y se agitaron durante un minuto. Pasado el tiempo de reposo se centrifugaron durante 15 minutos a 10 000 rpm. El sobrante se decantó en una probeta y se midió el volumen, el cual representa el agua no retenida. Para esta variable se reportó la cantidad de mL de solución retenida por 100 g de carne (Guerrero *et al.*, 2002).

##### ***Oxidación lipídica de la carne mediante la técnica de TBARS***

El método se basa en la determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). En un homogenizador IKA T 18 Ultra Turrax (Staufen Alemania) se homogenizaron 5 g de carne con 20mL de una solución de ácido tricloroacético (TCA) al 5%. Para ello se usaron 5g de TCA y se aforó en 1000 mL de agua destilada. Dicha mezcla se centrifugó a 10000 rpm durante 15 min a

4°C, y posteriormente se filtró en papel Whatman No. 4. El filtrado se colectó en tubos ependorf de 2.5 mL, por duplicado, y se almacenó a -30 °C para su posterior análisis. Para preparar el ácido tiobarbitúrico (TBA) (80mN), se pesaron 1.648 de ácido tiobarbitúrico y se aforó en 100 mL de agua destilada. En tubos de ensaye con tapa rosca se tomó 1mL del extracto y se le adicionó 1mL de TBA a 80mM, aplicando un tratamiento térmico a 95°C durante 30 min. Posteriormente se dejó enfriar para su posterior lectura en un lector de placas Biotek Synergy HT (Vertmont, USA) a una absorbancia de 530nm siguiendo la técnica de Raharjo *et al.* (1992) y modificada por Hernández (2013). Los resultados se reportan en mg de malonaldehído (MDA)/kg de carne utilizando el coeficiente de extinción molar de  $1.56 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ .

#### ***Oxidación proteica de la carne mediante el método DNPH***

El método se basa mediante la determinación de carbonilos totales. Para ello, primeramente se obtuvo un extracto de la muestra de la carne, realizándose lo siguiente. En un homogenizador IKA T 18 Ultra Turrax (Staufen Alemania), se homogenizaron 2 g de carne con 30 mL de buffer de pirofosfatos de sodio a pH de 7.4, y se centrifugó durante 15 min, a 10,000 rpm a 4°C en una centrifuga 5810R ependorf (Hamburgo, Alemania). La mezcla de dichos componentes, se filtró con papel Wathman No. 4, y colectó en tubos ependorf de 2.5 ml, que conformó el extracto, y posteriormente se congelaron a -30° C para su posterior análisis.

*Buffer de pirofosfatos de sodio pH 7.4.* Para la preparación del buffer se pesaron y mezclaron 8.92g de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , 2.37g de Trismaleato, 7.45 de KCl (cloruro de potasio), 0.406g de  $\text{MgCl}_2$  (cloruro de magnesio), y 0.76g EGTA. Posteriormente, dichos reactivos se disolvieron en 750 mL de agua destilada, ajustando el pH a 7.4, y aforandose a 1000 mL. El buffer se conservó en refrigeración a 4°C.

Posteriormente, se procedió a realizar la prueba del DNPH (2,4-Dinitrophenylhydrazine). Para ello, se pesaron 0.05g de DNPH y se aforó a 25 mL con HCl 2N. Esta solución se preparó diariamente, manteniéndola en refrigeración a 4°C y en cuarto oscuro cuando no se utilizaba.

Del extracto homogenizado se tomaron dos alícuotas de 0.1 mL en tubos ependorf, a las cuales se les adicionó 1mL ácido tricloroacético (TCA) al 10%, y se centrifugaron por 5 min a 5000 rpm. El sobrenadante se eliminó y se dejaron los pellets, los cuales quedan al fondo del ependorf. Al primero tubo se le adicionó 1 ml de HCL 2N y fue etiquetado como muestra A. Al segundo tubo se le adicionó 1mL de DNPH al 2% en HCl 2N y fue etiquetado como muestra B. Los tubos se incubaron en la oscuridad durante una hora a temperatura ambiente agitando cada 15 min. Una vez transcurrido este tiempo se le adicionó a cada tubo 1 mL de TCA al 10% y se volvió a centrifugar a 5000 rpm durante 2 min. Posteriormente el precipitado (los pellets) se lavó con 1mL de etanol/acetato de etilo 1:1, se agitó y se suspendió en 1.5 mL de buffer de fosfatos 20 mM a pH 6.5 con hidrocloreuro de guanidina 6M. Utilizando un lector de placas Biotek Synergy HT (Vertmont, USA), se calculó la concentración de proteína a 280 nm de la muestra que etiquetamos como A, usando como estándar albumina de huevo. Con esa información se calculó el contenido de carbonilos en la muestra B a 370 nm utilizando el coeficiente de extinción molar para las hidrazonas ( $21 \text{ Mm}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ). Los resultados se expresaron por nmol de carbonilos por mg de proteína. Técnica basada en Armenteros *et al.* (2009) y modificada por Hernández (2013).

### ***Capacidad antioxidante de la carne por el método DPPH***

El método DPPH se basa en la reducción del radical DPPH<sup>\*</sup> por los antioxidantes presentes en la muestra de carne. La reacción se realizó conforme a lo reportado por Padilla *et al.* (2008) y modificado por Hernández, (2013). Para lo cual se tomó una alícuota de 927  $\mu\text{L}$  de la disolución del radical DPPH<sup>\*</sup> (2.025g/L) en solución metanólica y 25  $\mu\text{L}$  del extracto de la muestra. Posterior a este paso, se leyó la absorbencia inicial ( $A_{t=0}$ ) a 515nm y después, dicha absorbencia se midió a los 25 min ( $A_{t=25}$ ), usando un lector de placas Biotek Synergy HT (Vertmont, USA). La curva de calibración fue realizada con Trolox en concentraciones de 300 a 1600  $\mu\text{L}$ . Los resultados se expresan en mg de Trolox/100g de carne.

### ***Capacidad antioxidante de la carne por el método FRAP***

El método FRAP se basa en el poder de reducción del hierro de la forma férrica a ferrosa, con 2-4-6 tripiridil-s-triazina (TPTZ). La determinación se realizó acorde a Descalzo y Sancho (2008) y modificado de acuerdo a Hernández (2013). Para ello se tomó una alícuota de 7  $\mu\text{L}$  del extracto de buffer de acetatos a la cual se le adicionó 273  $\mu\text{L}$  de una solución de FRAP (2.5 ML de TPTZ 10Mm en HCL 40 Mm 2.5 mL de  $\text{FeCl}_3$  20Mm y 25 mL de buffer de acetatos 0.3Mm a pH 3.6). Se utilizó un blanco espectro con TPTZ y un blanco reacción compuesto por la disolución de FRAP junto con el buffer con el que se homogenizó la muestra. Se utilizó un lector de placas y las absorbencias se determinaron a 593nm. Las lecturas se tomaron a los 6 min de iniciada la reacción. La curva estándar se realizó con Trolox de 20 a 150  $\mu\text{M}$ . Los resultados se expresan en  $\mu\text{M}$  de Trolox /100g de carne.

### ***Obtención del extracto de la carne y buffers para determinar actividad antioxidante***

Para el extracto de la carne, se utilizaron 5g de carne con 25mL de Buffer de fosfatos (20 mM, pH 6.5) y se homogenizaron en un homogenizador IKA T18 Ultra Turrax para DPPH y Buffer de acetatos (0.3 M pH 3.6) y FRAP. Una vez homogenizado se centrifugó durante 15 min, a 10,000 rpm a 4°C, en una centrifuga 5810R Ependorf, Hamburgo, Alemania. Después de centrifugar, la muestra se filtró con papel Wathman No. 4, colectando el filtrado en tubos ependorf de 2.5 ml y se congelaron a una temperatura de -30° C para su posterior análisis.

Para el Buffer de acetatos 0.3 M pH 3.6 (250 mL) se pesó 0.612g de acetato de sodio y se tomó 4.027 mL de ácido acético concentrado (la mezcla se realizó dentro de la campana) posteriormente se adicionaron 200 mL de agua destilada, ajustando la mezcla a un pH 3.5 y se aforando a 250 mL.

Para el Buffer de fosfatos 20 mM pH 6.5 con 6M hidrocloreuro de Guanidina (500 mL), se pesó 1.155g de fosfato de sodio monobásico y se mezcló con 0.581g de fosfato de sodio dibásico. Dicha mezcla se disolvió con 400 mL de agua destilada, ajustando a pH 6.5, y posteriormente se aforó a 500mL. Después se pesaron 286.59g de hidrocloreuro de guanidina y disolvieron en los 500 mL del buffer de fosfato de sodio a pH 6.5.

Los buffers se prepararon cada semana y se conservaron en refrigeración a 4°C.

### ***Determinación de perfil de ácidos grasos de la carne por cromatografía de gases***

Los ácidos grasos de las muestras de carne se cuantificaron por cromatografía de gases (Hewlett Packard GC system 6890+;Wilmington, DE) con inyector automático equipado con un detector

por ionización de flama y una columna capilar de sílica SP-2560 (100 m, 0.25 mm d.i. con una cubierta de 0.2  $\mu\text{m}$  de grosor, Supelco Inc., Bellefonte, PA). La temperatura inicial del horno (80  $^{\circ}\text{C}$ ) se sostuvo por 28 min y después se incrementó a una tasa de 2  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  hasta los 190 $^{\circ}\text{C}$  donde se sostuvo por 20 min. Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 250  $^{\circ}\text{C}$ . El gas acarreador fue Helio y el aire a 350 $^{\circ}$  por minuto y el hidrogeno a 250 $^{\circ}$  min. Los picos en los cromatogramas fueron identificados y cuantificados usando un estándar de SUPELCO catalogo No. 18918-1AMP.

Para realizar ello, se tomaron 50 g muestra del músculo *longissimus dorsi*, se picaron finamente y se colocaron en cajas de Petri de cristal de 150 x 15 mm donde se liofilizaron durante tres días (el primer día a 35 $^{\circ}\text{C}$ , después a 25 $^{\circ}\text{C}$  y finalmente a 15 $^{\circ}\text{C}$ ). Una vez leofilizadas, las muestras se trituraron hasta hacerlas polvo, se colocaron en bolsas ziploc y se mantuvieron en refrigeración a 4 $^{\circ}$  C, evitando que se humedecieran, para su posterior análisis. Para preparar la muestra se pesaron 0.15g de carne leofilizada y en polvo y se colocaron en tubos de ensaye donde se le agregó 2 mL Hexano, posteriormente se agitó en un vortex durante 1 min y se llevaron a baño ultrasónico durante 15 minutos para romper la membrana. Posteriormente, la muestra se tapó y se dejó reposar en refrigeración a 4 $^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Pasado el tiempo de reposo, el sobrenadante se retiró y se centrifugó nuevamente para quitar los residuos de la carne. En otro tubo de ensaye se colocó 1mL de extracto y se le agregó 1.5 mL de NaCl a 0.9% y nuevamente se agitó vigorosamente y se dejó reposar aproximadamente un minuto hasta observar la separación de las soluciones (hexano -  $\text{H}_2\text{O}$  +NaCl 0,9%). La solución de hexano (sobrenadante) se pasó a un eppendorf de 2mL y se centrifugó durante 5 minutos a 3 000 rpm. Posteriormente se tomó 1 mL del sobrenadante y se colocó en otro tubo eppendorf y se le agregó 1mL de KOH. La mezcla se agitó y se obtuvo un nuevo sobrenadante el cual se colocó en viales de tapa azul para

posteriormente ser leídos en un cromatógrafo de gases. La determinación se realizó con una modificación a la técnica que reporta el AOAC (2005).

### 3.5. Resultados y discusión

#### *pH de la carne*

El pH de la carne fue diferente entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 2), excepto en el día uno de maduración, cuyo promedio fue de 5.1, el cual coincide con lo reportado por Hui *et al.* (2006) quienes reportan que el rango normal de pH de la carne se encuentra entre 5.2 a 5.4. Estos resultados sugieren que los animales no sufrieron estrés *ante-mortem*. Sin embargo, a medida que transcurrieron los días de maduración, del día 7 al 28, fue evidente el cambio de pH de la carne. Los mayores valores de pH se observaron en la carne de los animales del tratamiento testigo, que puede atribuirse a que normalmente existe la formación de compuestos aminados producto de la putrefacción durante el almacenamiento debido a cambios de ionización que afectan el número de puentes salinos que estabilizan la estructura nativa de la proteína (Badui, 2006), incrementando así el valor de pH. En el caso de las muestras de carne provenientes de los tratamientos con taninos, vitamina E y pastoreo no fueron diferentes entre sí, cuyo pH se mantuvo constante hasta el día 28, evidenciando así un efecto antioxidante, retrasando el proceso de putrefacción, y por tanto, la no formación de compuestos aminados que originan dicho incremento de pH. Al respecto, Luciano *et al.* (2012) y Humada *et al.* (2013) encontraron previamente que al día 21 de maduración el valor promedio de pH fue 5.6 en carne de ovinos y toretes, comparado con 6.9 al día 28 de maduración, cuando los animales estuvieron en pastoreo y en estabulación alimentados con dietas a base de granos. Esto sugiere que los forrajes verdes independientemente de su contenido de taninos, aportan antioxidantes como la vitamina E (Jan *et al.*, 1995), que conlleva a

mantener un pH con valores bajos. Larraín *et al.* (2008) reportaron valores más bajos de pH (5.5) en carne de cruza de novillos Angus, que consumieron dietas donde usaron sorgo como fuente de taninos condensados. En tanto Liu *et al.* (1995) encontraron valores de pH de 5.6 en carne de bovinos comerciales alimentados con granos en corral, sin algún ingrediente que aporte taninos. Esto sugiere que independientemente de los taninos, el factor manejo (estrés) pudo estar influyendo en la estabilidad del pH, y que pudo estar sucediendo en el presente estudio en el día 1 de maduración.

**Cuadro 2. Medias de pH de carne de toretes alimentados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.**

Días de maduración	Tratamientos					P valor
	Testigo	Taninos	Vit. E	Pastoreo	EEM	
1	5.16	5.18	5.08	5.04	0.061	0.421
7	5.76 <sup>a</sup>	5.28 <sup>b</sup>	5.23 <sup>b</sup>	5.27 <sup>b</sup>	0.322	0.021
14	5.99 <sup>a</sup>	5.38 <sup>b</sup>	5.50 <sup>b</sup>	5.44 <sup>b</sup>	0.113	0.013
21	6.72 <sup>a</sup>	5.54 <sup>b</sup>	5.55 <sup>b</sup>	5.59 <sup>b</sup>	0.424	0.029
28	6.92 <sup>a</sup>	5.68 <sup>b</sup>	5.68 <sup>b</sup>	5.59 <sup>b</sup>	0.642	0.001

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; Taninos, 3% de extracto de quebracho.

### ***Capacidad de retención de agua de la carne***

Las medias de capacidad de retención de agua (CRA) se muestran en el Cuadro 3. No hubo diferencias entre tratamientos ( $P > 0.05$ ) en los primeros días de maduración (1 y 7), pero sí ( $P < 0.05$ ) en los días posteriores, 14, 21 y 28. La CRA está altamente relacionada con el pH, específicamente con el punto isoeléctrico de las proteínas que conforman la carne, el cual es alrededor de 5.2 (Hui *et al.*, 2006), donde a medida que se aleja de dicho punto isoeléctrico, la capacidad de retención de agua incrementa. En este sentido, el hecho que al día 1 y 7 de



maduración, la CRA fue alta, se debió a que en ese momento aún no se pierde la integridad de la fibra muscular (Liu *et al.*, 1996).

A partir del día 14 hasta el 28 de maduración hubo diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en la capacidad de retención de agua, con mayor valor para aquellas muestras de carne con taninos, vitamina E y pastoreo, en comparación con aquellas del tratamiento testigo (Cuadro 3). Es interesante observar el similar comportamiento de las muestras de carne del tratamiento bajo pastoreo, que de acuerdo a (Wood *et al.*, 2001), pudo deberse al contenido de taninos condensados que presenta el pasto Orchard en estado vegetativo. Todo este comportamiento indica que a mayor concentración de antioxidantes en el músculo, hay menor pérdida de agua en la carne por la acción que ejercen los antioxidantes al ceder electrones estabilizando a la membrana celular (Romero *et al.*, 2003). Es importante resaltar que en aquellas muestras del tratamiento testigo, la CRA disminuyó drásticamente del día 1 al 28 de maduración, cayendo de 18.43 a 2.43 mL de agua retenida/100g de carne, situación que no sucedió en aquellas muestras sujetas a taninos, vitamina E y pastoreo, donde en promedio, la CRA disminuyó de 18.49 a 11.10 mL de agua retenida/ 100g de carne. Resultados similares reportaron Barragán (2009), con un promedio de 2.32 mL de agua retenida/ 100g de carne en las muestras testigo de carne de bovino en comparación con 18.27 mL de agua retenida/100g de carne de animales suplementados con 2,500 UI de Vitamina E, al día 28 de maduración. Es posible que los antioxidantes hayan actuado estabilizando la membrana celular impidiendo la pérdida de agua (Armenteros *et al.*, 2012).

**Cuadro 3. Capacidad de retención de agua (mL de agua retenida/100 g de carne) en carne de toretes suplementados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.**

Días de maduración	Tratamientos					P valor
	Testigo	Taninos	Vit. E	Pastoreo	EEM	
1	18.43	18.57	18.56	18.34	0.071	0.322
7	18.09	18.17	18.26	18.14	0.121	0.231
14	10.43 <sup>c</sup>	15.57 <sup>b</sup>	17.21 <sup>a</sup>	15.34 <sup>b</sup>	0.342	0.012
21	5.28 <sup>b</sup>	11.36 <sup>a</sup>	11.99 <sup>a</sup>	12.02 <sup>a</sup>	0.421	0.031
28	2.43 <sup>b</sup>	10.42 <sup>a</sup>	11.56 <sup>a</sup>	11.34 <sup>a</sup>	0.731	0.011

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; Taninos, 3% de extracto de quebracho.

### *Oxidación lipídica en carne*

En el Cuadro 4 se muestran las medias de la concentración de malonaldehído (MDA), sustancia reactiva al ácido tiobarbitúrico (TBA), mediante la cual se determina la oxidación lipídica, y se hacen evidentes a partir de la oxidación de los ácidos grasos que contienen tres o más dobles enlaces. El MDA procede en gran parte, de la descomposición de endoperóxidos, causando coloración roja al reaccionar con el TBA (Hernández, 2013). El efecto de los tratamientos en la concentración de MDA no fue significativa ( $P > 0.05$ ) en el día 1 de maduración, pero sí ( $P < 0.05$ ) a partir del día 7 al 28 de maduración, con mayores valores en las muestras de carne del tratamiento testigo. Este resultado indica mayor oxidación lipídica, cuyos promedios fueron 3.381 a 13.157 mg de MDA/kg de carne, comparado con 1.27 a 2.45 mg de MDA/kg de carne para los tratamientos con taninos, vitamina E y pastoreo, respectivamente, lo cual confirma el efecto antioxidante de los taninos, junto con la vitamina E y los posibles polifenoles presentes en el forraje fresco, particularmente sobre los ácidos grasos polinsaturados de las membranas, evitando pérdida de fluidez y lisis celular, disminuyendo así la peroxidación lipídica (Armenteros *et al.*, 2012). Similar a los resultados aquí reportados, fueron encontrados por Inseira *et al.* (2013) y Luciano *et*

*al.* (2013a) en borregos en pastoreo y alimentados con concentrado a base de maíz quebrado y salvado de trigo, respectivamente. Dichos autores sugieren que tal comportamiento se debió a posibles compuestos fenólicos como taninos, flavonoides, ácidos hidroxibenzoico y hidroxinámico, éstos últimos forman parte de la pared celular de los forrajes.

Es interesante observar que en el presente estudio, la concentración de MDA en muestras de carne del tratamiento testigo aumentó de 3.381 a 13.157 mg, del día 7 al 28 de maduración, mientras que dicho incremento en aquéllas muestras de carne con taninos, vitamina E y pastoreo, fue de 1.037 a 2.489, 1.345 a 2.481, y 1.435 a 2.381 mg de MDA/kg de carne, respectivamente. Dichos valores representan un incremento del 301.1, 140.0, 84.5, y 65.9 %, respectivamente. Nassu *et al.* (2003) encontraron que los valores de MDA incrementaron en muestras testigo de salchichas fermentadas de cabra comparado con aquellas que se les incluyó extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*), con valores máximos al día 30 de maduración, y posteriormente disminuyó, sugiriendo que ello ocurrió por desarrollo de radicales libres en los primeros estadios de la oxidación. Los autores de dicho estudio sugieren que los componentes que causaron dicho comportamiento fueron el carnosol, epirosmanolditerpenodifenólico y el isorosmanol contenidos en las hojas de Romero. En el mismo sentido, Inserria *et al.* (2013) reportaron que al usar pulpa de cítrico en dieta de borregos, se redujo la oxidación lipídica en la carne debido al contenido de compuestos fenólicos totales presentes en la pulpa. Dado que los taninos son compuestos fenólicos, y están presentes en el extracto de quebracho usado en el presente estudio, hace pensar que dichos taninos ejercieron el mismo efecto en la carne de bovino. Debido a que mayor concentración de MDA representa mayor oxidación en carne, estos resultados indican que las muestras de carne, que no contenía antioxidantes, se oxidaron en mayor proporción, incrementándose a medida que transcurrieron los días de oxidación. Este comportamiento es

explicado porque los mecanismos de protección de los compuestos de los polifenoles como los taninos ocurre en el estado inicial y con mayor efectividad en el estado de propagación de la oxidación, debido a la captura de los radicales libres, inhibiendo de esta manera la reacción en cadena, como reportado décadas atrás (Deker, 1995).

**Cuadro 4. Valores de TBARS (mg/MDA/kg de carne) en carne de toretes alimentados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.**

Días de maduración	Tratamientos					P valor
	Testigo	Taninos	Vit. E	Pastoreo	EEM	
1	0.088	0.082	0.086	0.091	0.076	0.381
7	3.381 <sup>a</sup>	1.037 <sup>b</sup>	1.345 <sup>b</sup>	1.435 <sup>b</sup>	0.321	0.011
14	6.721 <sup>a</sup>	1.981 <sup>b</sup>	1.876 <sup>b</sup>	1.971 <sup>b</sup>	0.111	0.002
21	10.431 <sup>a</sup>	2.487 <sup>b</sup>	2.461 <sup>b</sup>	2.215 <sup>b</sup>	0.531	0.001
28	13.157 <sup>a</sup>	2.489 <sup>b</sup>	2.481 <sup>b</sup>	2.381 <sup>b</sup>	0.421	0.001

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; Taninos, 3% de extracto de quebracho; MDA, Malonaldehído; TBARS, ácido tiobarbitúrico.

### *Oxidación proteica en carne*

Las medias de la oxidación proteica, analizado por el método de DNPH, se muestran en el Cuadro 5, en el cual se aprecia que no hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos en el primer día de maduración, pero sí ( $P < 0.05$ ) en los días posteriores. Lund *et al.* (2007) encontraron valores similares al primer día de maduración, los cuales oscilaron entre 0.010 y 0.018 Nm hidrazonas/mg de proteína en carne de cerdo. Ello indica que al inicio de la maduración en todos los tratamientos hubo concentración similar de carbonilos, al encontrado en nuestro estudio, cuyo promedio fue 0.010 Nm hidrazonas/mg de proteína, indicativo que aún no hay daño oxidativo, con el cual existen modificaciones en determinados aminoácidos,

fragmentación de la cadena peptídica, agregaciones, entrecruzamientos y/o un incremento en la susceptibilidad a la proteólisis (Estévez, 2011; Armenteros *et al.*, 2012).

A partir del día 7 al 28 de maduración de la carne, se observaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en las muestras testigo con respecto a aquéllas en tratamiento, con mayores valores de Nm hidrazonas/mg de proteína en las muestras testigo, que sugieren mayor oxidación proteica cuando los antioxidantes no son incluidos en la dieta del animal. En el caso particular de los compuestos fenólicos como los taninos, actúan generalmente como captadores de radicales libres impidiendo la oxidación de las proteínas. Los mecanismos de protección de los polifenoles de los taninos ocurren en el estado inicial, y más efectivamente durante el estado de propagación de la oxidación, por captura de los radicales libres, inhibiendo de esta manera la reacción en cadena.

Las muestras testigo alcanzaron su pico de máximo de oxidación, con 0.418 Nm hidrazonas/mg de proteína, al día 28 de maduración, contrastando significativamente con el valor observado en aquéllas muestras del tratamiento con taninos, vitamina E y pastoreo, 0.194, 0.153 y 0.204 Nm hidrazonas/mg de proteína, respectivamente, para el mismo día de maduración. Al respecto, Xia *et al.* (2007) reportaron valores que oscilan de 0.2 hasta 1.16 Nm de hidrazonas/mg proteína en músculo *Longissimus dorsi* de cerdo, cuando se adicionaron Butil-hidroxil-anisol y Butil-hidroxil-tolueno como antioxidantes sintéticos en la dieta. Estos resultados confirman la importancia del uso de antioxidantes, ya que evitan la formación de compuestos reactivos al oxígeno, que son los principales agentes que oxidan las macromoléculas de lípidos y proteínas a su alcance (Armenteros *et al.*, 2012). Sin embargo, el uso de antioxidantes sintéticos está limitado a ciertas cantidades y además presenta inconvenientes, ya que dada su alta volatilidad, se descomponen con facilidad a temperaturas altas (Quintanar y Calderón, 2009; Armenteros *et al.*,

2012). A este respecto Inseira *et al.* (2013), reportaron que adicionar pulpa de cítricos en la alimentación en corderos, mejora la estabilidad proteica en la carne por más tiempo, argumentando que existen evidencias de que la hesperidina, compuesto fenólico típico cítricos, se distribuye en el sistema circulatorio, y es retenida en los tejidos protegiendo la carne contra la oxidación por varios días, particularmente si las condiciones de refrigeración son las adecuadas.

Es interesante observar que los resultados de la oxidación proteica aquí reportados, tienen la misma tendencia que los resultados de la oxidación lipídica, discutidos anteriormente. Esta aparente relación entre la concentración de TBA y la concentración de carbonilos presentes en la muestras de carne indican la probabilidad de que algunos compuestos dicarbonílicos derivados de la oxidación lipídica, probablemente malonaldehído, formen compuestos con proteínas (Xiong, 2000).

**Cuadro 5. Valores de DNPH (Nm/H/mg proteína) en carne de toretes suplementados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.**

Días de maduración	Tratamientos					P valor
	Testigo	Taninos	Vit. E	Pastoreo	EEM	
1	0.012	0.011	0.010	0.01	0.111	0.781
7	0.055 <sup>a</sup>	0.008 <sup>b</sup>	0.008 <sup>b</sup>	0.008 <sup>b</sup>	0.281	0.001
14	0.051 <sup>a</sup>	0.023 <sup>b</sup>	0.019 <sup>b</sup>	0.018 <sup>b</sup>	0.182	0.022
21	0.278 <sup>a</sup>	0.118 <sup>b</sup>	0.103 <sup>b</sup>	0.109 <sup>b</sup>	0.321	0.021
28	0.418 <sup>a</sup>	0.194 <sup>b</sup>	0.153 <sup>b</sup>	0.204 <sup>b</sup>	0.719	0.001

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente (P<0.05); EEM, Error estándar de la media; Taninos, 3% de extracto de quebracho; H; Hidrozonas; DNPH; 2,4-dinitrofenilhidrozina.

### ***Actividad antioxidante en carne***

La actividad antioxidante de la carne puede medirse a través de varias técnicas, una de ellas es la capacidad reductora de fierro en plasma (FRAP), siendo éste el indicador del poder antioxidante de la muestra en cuestión, que determina la capacidad de la muestra para reducir la forma férrica del hierro a la forma ferrosa vía trispiril-s- triazina (TPTZ) (Descalzo y Sancho 2008). En el mismo sentido, la reducción del radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), es otro indicador de la actividad antioxidante de la carne. Ambos métodos fueron utilizados para medir la actividad antioxidante de la carne en el presente estudio, cuyos resultados se muestran en los Cuadros 6 y 7. Para el caso del método FRAP (Cuadro 6), los resultados muestran diferencias significativas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) desde el primer día de maduración, con mayor actividad reductora en las muestras de los tratamientos con taninos, vitamina E y pastoreo, cuyos valores promedio fueron 6.05, 7.44 y 6.70  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne, respectivamente. Aouadi *et al.* (2014) encontraron al primer día de observación, valores de 5.17  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne en muestras control contra 7.83-7.79  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne en muestras de carne provenientes de borregos alimentados con aceite de romero (*Rosmarinus officinalis*) y artemisa (*Artemisia herba alba*) en la dieta, como fuente de antioxidantes. Estos resultados evidencian el efecto de los antioxidantes, y en particular, el potencial que tienen los taninos, así como el uso de forrajes frescos a través del pastoreo.

El trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) es un análogo de la vitamina E, el cual es un indicador para detectar antioxidantes en alimentos. En el caso del presente estudio se encontró mayor cantidad de trolox hasta el día 28 en las muestras que contenían taninos, vitamina E y aquellas provenientes de pastoreo, en comparación a las muestras testigo. A partir del día 7 hasta el día 28 de maduración, la actividad reductora en las muestras de carne evaluadas

empezó a disminuir, siendo las muestras testigo las que disminuyeron su actividad antioxidante en mayor proporción, con valores de hasta 0.82  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne, comparada con los tratamientos con taninos, vitamina E y pastoreo, cuyo promedio fue de 1.27  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne al día 28 de maduración. Lo anterior indica que los taninos, vitamina E y pastoreo, como fuentes de antioxidantes, tuvieron efecto significativo en la actividad antioxidante, reduciendo la aparición de fenómenos de oxidación en la carne y manteniendo su calidad y vida de anaquel por mayor tiempo (Armenteros *et al.*, 2012; Luciano *et al.*, 2013b).

**Cuadro 6. Valores de la actividad antioxidante – FRAP ( $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne) en carne de toretes suplementados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.**

Días de maduración	Tratamientos					P valor
	Testigo	Taninos	Vit. E	Pastoreo	EEM	
1	4.983 <sup>c</sup>	6.051 <sup>b</sup>	7.438 <sup>a</sup>	6.697 <sup>b</sup>	0.183	0.031
7	5.001 <sup>c</sup>	5.992 <sup>b</sup>	6.435 <sup>a</sup>	6.567 <sup>a</sup>	0.123	0.031
14	4.327 <sup>b</sup>	5.872 <sup>a</sup>	6.072 <sup>a</sup>	6.021 <sup>a</sup>	0.522	0.021
21	1.831 <sup>c</sup>	3.121 <sup>b</sup>	4.216 <sup>a</sup>	3.227 <sup>b</sup>	0.47	0.034
28	0.882 <sup>b</sup>	1.131 <sup>a</sup>	1.562 <sup>a</sup>	1.124 <sup>a</sup>	0.277	0.012

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; Taninos, 3% de extracto de quebracho; FRAP; capacidad reductora de hierro en plasma.

Cuando la actividad antioxidante se determinó por el método de la reducción del radical DPPH (Cuadro 7), los resultados fueron similares al determinado por el método FRAP, con diferencia significativa entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) al primer día de maduración, con un promedio de 17.66  $\mu\text{M}$  Trolox/100g de carne, para aquellas muestras con taninos, vitamina E y pastoreo, contra 16.03  $\mu\text{M}$  Trolox/100g de carne para el testigo, aunque no hubo diferencia entre éste último con aquellas muestras bajo pastoreo. Es interesante observar que al primer día de maduración, la mayor actividad antioxidante se observó en aquellas muestras con el tratamiento de taninos, cuyo



valor fue de 18.011  $\mu\text{M}$  Trolox/100g de carne. Posterior al día uno de maduración, la diferencia con los resultados obtenidos con el método FRAP, fue que el tratamiento con Vitamina E se obtuvo mayor valor antioxidante (26.389  $\mu\text{M}$ Trolox/100g de carne). Comportamiento similar encontró Hernández (2013) en carne de cerdo, cuando éstos se suplementaron con vitamina E, selenio y astaxantina, observando su mayor actividad antioxidante en los días 7 y 14 de maduración. Al respecto, Descalzo y Sancho (2008) y Jan *et al.* (1995) indican que la defensa antioxidante se encuentra presente en la muestra durante los primeros 14 días de almacenamiento, posteriormente dicha actividad comienza a disminuir.

En el caso de la capacidad antioxidante de los forrajes, es debido a la posibilidad de contener mayor concentración de compuestos fenólicos (Armenteros *et al.*, 2012). La utilización de antioxidantes de origen natural por medio de la dieta animal permiten que no se produzcan las especies reactivas oxigenadas (antirradicales), de forma que impiden las consecuencias de su actividad, estos antirradicales actúan principalmente en reacciones de determinación de cadenas de radicales libres, impidiendo la oxidación de lípidos, proteínas y otras moléculas como ADN y enzimas (Mesa *et al.*, 2013), cediendo átomos de hidrógeno de forma que se neutralizan los radicales libres (Quintanar y Calderón, 2009).

### ***Perfil de ácidos grasos en carne***

En el Cuadro 8 se presentan las medias de los principales ácidos grasos en carne de bovino alimentados con taninos en la dieta. Los tratamientos no modificaron la concentración de los ácidos grasos saturados ( $P>0.05$ ), pero sí la de los ácidos grasos insaturados ( $P<0.05$ ), encontrando mayores concentraciones en las muestras de carne de los animales que fueron suplementados con taninos, vitamina E y pastoreo, cuyos valores para ácido oleico (C18:1) son

40.41, 38.95 y 39.21%, respectivamente, en comparación con la muestra testigo que presentó 24.40 %. Este comportamiento representa 37.74% más de concentración de ácido oleico en aquellas muestras de carne que fueron suplementadas con taninos, vitamina E y pastoreo, y en particular, las muestras de carne bajo el tratamiento con taninos, fueron las que representaron mayor porcentaje de concentración de éste ácido, con 39.62% con respecto a las muestras de carne testigo.

**Cuadro 7. Valores de la actividad antioxidante – DPPH, en carne de toretes suplementados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.**

Días de maduración	Tratamientos					P valor
	Testigo	Taninos	Vit. E	Pastoreo	EEM	
1	16.031 <sup>b</sup>	18.011 <sup>a</sup>	17.983 <sup>a</sup>	16.991 <sup>b</sup>	0.183	0.038
7	19.371 <sup>c</sup>	23.031 <sup>b</sup>	26.389 <sup>a</sup>	22.817 <sup>b</sup>	0.133	0.021
14	13.142 <sup>c</sup>	20.041 <sup>b</sup>	24.329 <sup>a</sup>	22.312 <sup>b</sup>	0.522	0.022
21	9.391 <sup>c</sup>	18.431 <sup>c</sup>	22.632 <sup>a</sup>	20.431 <sup>a</sup>	0.37	0.012
28	0.418 <sup>c</sup>	11.621 <sup>b</sup>	19.123 <sup>a</sup>	18.913 <sup>a</sup>	0.177	0.014

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente (P<0.05); EEM, Error estándar de la media; Taninos, 3% de extracto de quebracho; DPPH; 2,2-diphenyl-1picrilhydrazil.

De la misma forma se observa el comportamiento del ácido linoleico (C18:2) encontrando porcentajes mayores en aquellas muestras con algún suplemento en donde la muestra con mayor concentración de ácido linoleico (C18:2) la presenta las de vitamina E con 4.31%, seguidas de las muestras con taninos y pastoreo con 4.25%, 4.21% respectivamente, y finalmente las de menor concentración las presentaron las muestras testigo con 2.38%. Es importante resaltar que estas diferencias representan el 56% más de concentración de ácido linoleico en aquellas muestras que tuvieron tratamientos con taninos, vitamina E y pastoreo. Al respecto, Enser *et al.* (1997), French *et al.* (2000) y Varela *et al.* (2004), encontraron en carne de bovino finalizados en pastoreo, porcentajes más altos de ácido oleico (C18:1) y linoleico (C18:2), con valores de 35.19% a

40.58% para ácido oleico (C18:1), y de 2.50 a 5.07% para linoleico (C18:2), muy similares a los encontrados en el presente estudio. Respecto al ácido palmitoleico, que no fue diferente ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos, promedió 3.27 a 3.39%, valores similares a los encontrados por Leheska *et al.* (2008), en carne de bovinos bajo pastoreo y Nuernberg *et al.* (2005), en carne de bovinos en pastoreo y suplementados con granos. Se observó que el ácido oleico (C18:1) es el ácido graso más abundante en la carne (Montero *et al.*, 2011), en el presente estudio se encontró 37.74 % mayor concentración de los valores normales, posiblemente debido a que las hojas de las plantas son la fuente primaria de PUFA n-3 para rumiantes, una vez que tienen la capacidad de sintetizar *de novo* C18:3 n-3, que es el ácido graso principal en el metabolismo de elongación y desaturación de los ácidos grasos de la serie n-3 presentes en los rumiantes y que les permite la síntesis de EPA y DHA (Scollan *et al.*, 2003), explicándose así los valores más elevados encontrados en animales del sistemas bajo pastoreo o suplementados con algún tipo de forraje. En referencia a esto, se ha reportado que la carne de bovinos finalizados en pastoreo tienen mayor calidad nutricional en comparación con animales alimentados con granos (French *et al.*, 2000; Lehesja *et al.*, 2008).

**Cuadro 8. Perfil de ácidos grasos de carne de toretes suplementados con diferentes fuentes de antioxidantes en la dieta.**

Ácido Graso	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Taninos	Vit.E	Pastoreo		
Mirístico	3.38	3.72	3.36	3.54	0.012	0.221
Palmitico	24.38	23.98	24.01	24.18	0.228	0.091
Estearico	17.84	17.79	17.93	18.03	0.133	0.072
Heptadecanoico	1.83	1.93	1.86	1.93	0.278	0.111
Palmitoleico	3.27	3.32	3.39	3.29	0.652	0.201
Oleico	24.40 <sup>b</sup>	40.41 <sup>a</sup>	38.95 <sup>a</sup>	39.21 <sup>a</sup>	0.541	0.028
Linoleico	2.38 <sup>b</sup>	4.25 <sup>a</sup>	4.31 <sup>a</sup>	4.21 <sup>a</sup>	0.441	0.023

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; Taninos, 3% de extracto de quebracho.

### 3.6. Conclusiones

Bajo las condiciones en que se realizó este experimento, se concluye que los taninos ejercieron poder antioxidante, confirmado con la mayor duración de la vida de anaquel de la carne, que se prolongó hasta los 21 días. De ello se desprende que el uso de árboles forrajeros, con alto contenido de taninos, tiene alto potencial para ser usado como fuente natural de antioxidantes, y bien pueden ser usados comercialmente. Sería interesante explorar y evaluar diferentes fuentes y concentraciones de taninos incluidos en la dieta del animal, a fin de tener mayor oferta de antioxidantes naturales a usar en la industria cárnica. Adicionalmente, incluir taninos en la dieta de los animales, podría mejorar el perfil de ácidos grasos, según lo reportado en el presente estudio, donde se encontró que los taninos causaron mayor concentración de ácido oleico y linoleico, incrementando así el valor agregado de la carne.

### 3.7. Literatura citada

- A.O.A.C, 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. Published by the Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C.
- Aouadi, D., Luciano, G., Vasta, V., Narsi, S., Brogna, D., Abidi, S., Priolo, A., and Salem, H.B. 2014. The antioxidant status and oxidative stability muscle from lambs receiving oral administration of *Artemisa herba alba* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Met Science*, 97:237:243.
- Armenteros, M., Heinunem, M., Ollilainen, V., Toldrá, F., and Estévez, M. 2009. Analysis of protein carbonyls in meat products by using the DNPH- method, fluorescence spectroscopy and liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry (LC-ESI-MS). *Meat Science*, 83:104-112.
- Armenteros, M., Ventanas, S., Morcuende, D., Estévez, M., and Ventanas, J. 2012. Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos. *Eurocarne*, 202: 63-73.
- Badui, D.S. 2006. Química de alimentos. 5ta Edición. Editorial Pearson Educación., México D.F. 550p
- Barragán, G.H. 2009. Calidad de la carne de bovinos suplementados con vitamina E. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo México.109p
- Deker, E.A. 1995. The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. *Nutrition Reviews*, 53:49-58.

- Descalzo, A.M., and Sancho, A. 2008. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quaoiñlity of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79: 423 -426.
- Enser, M., Hallett, K.G., Hewett, B., Fursey, G.A.J., Wood, J.D., and Harrington, G. 1997. Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. *Meat Science*, 49: 329-341.
- Estévez, M. 2011. Protein carbonyls in meat systems: A review . *Meat Science*, 89: 259-279.
- Estévez, M., Ventanas, S., and Cava, R. 2007. Oxidation of lipids and proteins in frankfurters with different fatty acid compositions and tocopherol and phenolic contents. *Food Chemistry*, 100: 55-63.
- French, P., Stanton, C., Lawless, F., O'riordan, E. G., Monahan, F. J., Caffrey, P. J., and Moloney, A.P. 2000. Fatty acid composition, including conjugated linoleicacid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. *Journal of Animal Science*, 78: 2849-2855.
- Guerrero, I.L., Ponce A.E., y Pérez C.L. 2002. Curso práctico de tecnología de carnes y pescado. Manual de prácticas de laboratorio. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F. 171 p.
- Heinonen, M. 2007. Antioxidant activity and antimicrobial effect of berry phenolics: a Finnish perspective-Review. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51:684-691.
- Hernández I.H. 2013. Efecto de la suplementación de dietas con vitamina D3 y 25 hidroxicolecalciferol en la estabilidad oxidante de la carne de cerdo. Tesis de Especialidad, Facultad de Química de Alimentos Universidad Autónoma de México, México D.F. 118p.

- Hui, Y. H., I. Guerrero L., y R. M. Rosmini. 2006. *Ciencia y Tecnología de Carnes*. Limusa. México. 634 p.
- Humada, M.J., Saduño, C., and Serrano, E. 2013. Chemical composition, vitamin E content, lipid oxidation, color and cooking losses in meat from Tudaca Bulls finished on semi-extensive or intensive system and slaughtered at 12 or 14 months. *Meat Science*, 96:908-215.
- Quintanar, E.M.G., y Calderón, S.J.V. 2009. La Capacidad Antioxidante Total. Bases y Aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*, 28:98-101.
- Inseira, L., Priolo, A., Biondi, L., Lanza, M., Bognanno, M., Gravador, R., and Luciano, G. 2013. Dietary citrus pulp reduces lipid oxidation in lamb meat. *Met Science*, 96: 1489-1493.
- Jan, P., Yanishlieva, N., and Gordon, M. 1995. Antioxidantes en los alimentos aplicaciones prácticas. Editorial ACRIBIA S.A. Zaragoza España. Pp. 23-145.
- Larraín, R.E., Richards, M.P., Schaefer, D.M., Ji, L.L., and Reed, J.D. 2007. Growth performance and muscle oxidation in rats fed increasing amounts of high-tannin sorghum. *Journal of Animal Science*, 85: 3276-3284.
- Larraín R.E., Schaefer D.M., Richards M.P., and Reed J.D. 2008. Finishing steers with based on corn, high-tannin sorghum or a mix of both: Color and lipid oxidation in beef. *Meat Science*, 79: 656-665.
- Leheska, J.M., Thompson, L.D., Howe, J.C., Hentges, E., Boyce, J., Brooks, J.C., and Miller, M.F. 2008. Effects of conventional and grass-feeding systems on the nutrient composition of beef. *Journal of Animal Science*, 86: 3575-3585.
- Liu, Q., Lanari, M.C., and Schaefer D.M. 1995. A review of vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*, 73:3131-3140.

- Liu, Q., K. K. Scheller, and D. M. Shaefer. 1996. Technical note: Simplified procedure for vitamin E determination in beef muscle. *Journal of Animal Science*, 74: 2406-2410.
- Liu, W.L., Gai, F.B., Gasco B.L., Brugiapaglia, B.A., Kai ,J.C., Guo, C., Ming, T. J., and Zoccarato, B.I. 2009. Effects of chestnut tannins on carcass characteristics, meat quality, lipid oxidation and fatty acid composition of rabbits. *Meat Science*, 83:678-683.
- Luciano, G., Biondi, L., Pagano, R. I., Scerra, M., Vasta, V., López, A., Valenti, B., Lanza, M., Priolo, A., and Avondo, M. 2012. The restriction of grazing duration does not compromise lam meat color and oxidative stability. *Meat. Science*, 92: 30-35.
- Luciano, G., Biondi, L., Scerra, M, Scerra, A., Mele, M., Lanza, M., and Priolo, A. 2013a. The effect the change from a herbage- to a concéntrate- based diet on the oxidative stability of raw and lamb meat. *Meat- Science*, 95: 212-218.
- Luciano, G., Pauselli, M., Servilli, Mourvaki, E., Serra, A., Monaham, F.J., Lanza, M., Priolo, A., Zinnai, A., and Mele, M. 2013b. Dietary olive reduces the oxidation of lipids, including colesterol, in lamb meat enriched polyunsaturated fatty acids. *Meat Science*, 93:703-714.
- Lund, M., Lametsch, R., Hviid, M., Jensen, N., and Skibsted, L. 2007. High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine Longissimus dorsi during chikstorage. *Meat Science*, 77:295-303.
- McDowell, L.R., Williams, S.N., Hidioglou, N., Njeru, C.A., Hill, G.M. Ochoa L, and Wilkinson, S. 1996. Vitamin E supplementation for the ruminant. *Animal Feed Science*, 60: 273-196.
- Mesa, M. A., Gaviria, C. A., Cardona, F., Sáez- Vega, J., Trujillo, S., and Rojano, B. 2013. Actividad antioxidante y contenido de fenoles de algunas especies del genero



*Calophyllum*. Archivos Científicos Ciencias Alimentarias. Univesidad de Antioquia. Medellin Colombia.

Montero Lagunes, M., Juárez Lagunes, I., y GarcíaGalindo, H.S. 2011. Perfil de ácidos grasos en carne de toretes Europeo x Cebú finalizados en pastoreo. Revista Mexicana de Ciencia Pecuaria, 2:137-149.

Nassu, R., Concalves, L., Da Silva, M., and Beserra, F. 2003. Oxidative stability of fermented goat meat sausage whit different levels of natural antioxidants. Meat Science, 63:43-49.

NRC, 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle. The National Academies Press, Washington, D.C. 344 p.

Nuernberg, K., Dannenberger, D., Nuernberg, G., Ender, K., Voigt, J., Scollan, N.D., and Richardson, R.I. 2005. Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds. Livestock Production Science, 94: 137-147.

Padilla, F.C., Rincón, A.M., y Bou-Rachel, L.2008. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. Archivos latinoamericanos de nutrición, 58: 303-308.

Price, J., and Schweigert, B. 1994. Ciencia de la carne y los productos cárnicos. 2da Edición. Editorial ACRIBIA S.A., Zaragoza España. Pp. 58-109, 175-188.

Priolo, A., Waghor, G.C., Lanza, M., Biondi, L., and Pennisi. 2000. Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: effects on lamb growth performance and meat quality. Journal Animal Science, 78:810-816.

- Raharjo, S., Sofos, J.N., and Schmidt, G.R. 1992. Improved Speed, Specificity and Limit of Determination of an Aqueous Acid Extraction Thiobarbituric Acid C18 Method for measuring Lipid and myoglobin. *Meat Science*, 43:111-112.
- Romero, M.A., Doval, M.M., Sturla, A.M., y Judis, A. 2003. Propiedades antioxidantes de compuestos polifenólicos presentes en extractos hidroalcohólicos de soja fermentada. *Comunicaciones científicas y tecnológicas, Universidad Nacional del Nordeste, Argentina*. Resumen: E-054.
- Sánchez-Escalante, A., Djenane, D., Torrescano, G., Beltrán, J.A. and Roncalés, P. 2006. Antioxidant action of borage, *rosemary*, oregano, and ascorbic acid in beef patties packaged in modified atmosphere. *Journal of Food Science*, 68: 339-344.
- SAS/STAT, 2010. Statistical Analysis System for windows. Version 9.3. SAS Institute Inc., Campus Drive, Cary, North Carolina 27513. Smith, A.H., Zoetendal, E., Mackie, R.I., 2005.
- Scollan, N.D., Enser, M., Gulati, S.K., Richardson, I., and Wood, J.D. 2003. Effects of including a ruminally protected lipid supplement in the diet on the fatty acid composition of beef muscle. *Br. Journal Nutrition*, 90:709-716.
- Suresh, K., Devatkal, and Naveena, B.M. 2010. Effect of salt, kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground goat meat during refrigerated storage. *Meat Science*, 85:306-311.
- Tang, S., Kerry, J.P., Sheehan, D., Buckley, D.J. and Morrissey, P.A. 2001. Antioxidative effect of added tea catechins on susceptibility of cooked red meat, poultry and fish patties to lipid oxidation. *Food Research International*, 34: 651-657.

- Tieko, N.R., Guaraldo, G.L.A., Acevedo, P.S.M., and Beserra, F.J. 2002. Oxidative stability of fermented goat met sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*, 63:43-49.
- Varela, A., Oliete, B., Moreno, T., Portela, C., Monserrat, L., Carballo, J. A., and Sánchez, L. 2004. Effect of pasture finishing on the meat characteristics and intramuscular fatty acid profile of steers of the *Rubia Gallega breed*. *Meat Science*, 67: 515-522.
- Velázquez, M.M. 2013. Taninos de forraje de árboles y su efecto en la producción y calidad de la carne de bovinos y ovinos. Tesis Doctoral. Colegio de postgraduados Campus Montecillos, Texcoco, Edo de México. 98p
- Wood, J., Senthilmoham, S., and Peskin, A. 2001. Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry*, 77:155-161.
- Xia, X., kung, B., Liu, Q., and Liu, J. 2007. Physicochemical change and protein-oxidation in porcine *Longissimus dorsi* as influenced by different freeze-thaw cycles. *Meat Science*, 83:239-245.
- Xiong, Y.L. 2000. Protein oxidation and implications for muscle foods quality. In EA Decker and López Bote (editores), antioxidants in muscle foods. New York; Willey. Pp. 71-111.

#### **4. ESTABILIDAD OXIDATIVA EN CARNE DE BORREGOS PELIBUEY A DIFERENTE FUENTES Y CONCENTRACIÓN DE TANINOS EN LA DIETA**

##### **4.1. Resumen**

El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta en estabilidad oxidativa y el perfil de ácidos grasos de la carne de borregos al incluir diferentes fuentes y concentraciones de taninos como antioxidantes naturales en su dieta. Se emplearon muestras de *Longissimus dorsi* de ovinos Pelibuey, provenientes de dos experimentos. En el primero se utilizaron 36 corderos Pelibuey, alojados en 4 grupos (9 animales cada uno), distribuidos en uno de cuatro tratamientos: T1, dieta base; T2, dieta base con heno de Cocuite; T3, dieta base con heno de Guasimo; y T4, dieta base con extracto de Quebracho. En el segundo, se usaron 28 corderos Pelibuey, agrupados en 4 grupos (7 animales cada uno), distribuidos en uno de cuatro tratamientos: T1, dieta base; T2, dieta base con 1000 UI/vit. E; T3, dieta base con 1.5% de taninos; T4, dieta base con 2.5% de taninos. La fuente de taninos en ambos experimentos, fueron el extracto de Quebracho, heno de Guasimo y Cocuite. En los dos experimentos se utilizó un Diseño Completamente al Azar. Los resultados se analizaron con el PROC GLM, y la comparación de medias, con la prueba de Tukey. Las variables evaluadas en cada uno de los experimentos fueron pH, capacidad de retención de agua (CRA), oxidación proteica (DNPH, 2,4-dinitrofenilhidrozina), oxidación lipídica (TBARS, ácido tiobarbitúrico), actividad antioxidante (FRAP-capacidad de reducción férrica del plasma, y DPPH-2,2-difenil-1picrilhidrazil) y perfil de ácidos grasos. Las evaluaciones fueron hechas a 0, 1, 7, 14, 21 y 28 días de maduración de la carne. La oxidación proteica y lipídica fueron diferentes entre tratamientos ( $P < 0.05$ ) en los dos experimentos, con mayores valores, al día 28 de maduración, para DNPH y TBARS en las muestras testigo, siendo 0.412 y 0.421 Nm/H/mg proteína, y 6.97 y 8.19 mg/MDA/kg de carne, comparados con 0.193, y 0.169 Nm/H/mg, y 4.22 y 6.92 mg/MDA/kg de carne para el resto de los tratamientos, en los

experimentos 1 y 2, respectivamente. En tanto que la actividad antioxidante – FRAP y DPPH, fueron mayores en los tratamientos con antioxidantes, que promediaron 1.08 y 1.21, y 1.53, y 2.27 de  $\mu\text{M}$  Trolox/100g de carne, comparadas con 0.79 y 0.788, y 0.708, y 0.482  $\mu\text{M}$  Trolox/100g de carne para las muestras testigo, en experimento uno y dos, respectivamente. En ambos experimentos, el ácido más abundante fue el oleico y linoleico, con valores promedio de 44.16 y 5.53%, y 43.61 y 2.46%, en el experimento 1 y 2, respectivamente, en las muestras con antioxidantes, contra 30.13 y 2.61%, y 39.53 y 1.84%, para el tratamiento testigo, respectivamente. No hubo diferencias entre tratamientos ( $P>0.05$ ) en pH ni CRA en experimentos 1, pero sí ( $P<0.05$ ) en el 2, con mayor valor de pH (6.7) y menor valor de CRA (4.28 de mL de agua retenida/100g de carne), para las muestras testigo, comparadas con aquellas con antioxidantes (6.24 y 5.76 de mL de agua retenida/100g de carne), respectivamente. Estos resultados, independientemente de los días de maduración, sugieren que el uso de forrajes con presencia de taninos, son una alternativa al uso de vitamina E como antioxidantes en carne de ovinos, alargando la vida en anaquel a través de la reducción de la oxidación lipídica y proteica de la carne. Además, contribuyen al incremento de los principales ácidos grasos insaturados de la carne.

**Palabras clave:** ovinos, Pelibuey, antioxidantes, taninos, estabilidad oxidativa.

## **OXIDATIVE STABILITY IN PELIBUEY SHEEP MEAT AT DIFFERENT SOURCES AND CONCENTRATIONS OF TANNINS IN THEIR DIETS**

### **4.2. Abstract**

The aim of this study was to evaluate the response in oxidative stability and the fatty acid profile of sheep's meat when including different sources and concentrations of tannins as natural antioxidants in their diets. Samples were taken of *Longissimus dorsi* from Pelibuey sheep from two experiments. In the first experiment, 36 Pelibuey sheep were used, kept in 4 groups (9 animals each), distributed into one of four treatments: T1, base diet; T2, base diet with Cocuite hay; T3, base diet with Guasimo hay; and T4, base diet with Quebracho extract. In the second experiment, 28 Pelibuey sheep were used, placed in 4 groups (7 animals each), distributed into one of four treatments: T1, base diet; T2, base diet with 1000 UI/vit E; T3, base diet with 1.5% tannins; T4, base diet with 2.5% of tannins. The sources of tannins in both experiments were the Quebracho extract and Guasimo and Cocuite hay. Both experiments used a completely randomized design. Results were analyzed using the PROC GLM, and the comparison of averages, using Tukey's test. The variables evaluated in each of the experiments were pH, water retention capacity (WRC), protein oxidation (DNPH, 2,4-dinitrofenilhidrozina), lipid oxidation (TBARS, thiobarbituric acid), antioxidant activity (FRAP - ferric reducing ability of plasma, and DPPH-2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil) and fatty acid profile. Evaluations were done at 0, 1, 7, 14, 21, and 28 days aging meat. Protein and lipid oxidation were different between treatments ( $P < 0.05$ ) in both experiments with higher values, on day 28 of maturation, for DNPH and TBARS in the control samples, being 0.412 and 0.421 Nm/H/mg protein, and 6.97 and 8.19 mg/MDA/kg of meat, compared with 0.193, and 0.169 Nm/H/mg, and 4.22 and 6.92 mg/MDA/kg of meat for the rest of the treatments, in experiments 1 and 2, respectively. Meanwhile, antioxidant activity – FRAP and DPPH, were higher in the treatments with antioxidants, which

averaged 1.08 and 1.21, and 1.53, and 2.27 of  $\mu\text{M}$  Trolox/100g of meat, compared with 0.79 and 0.788, and 0.708, and 0.482  $\mu\text{M}$  Trolox/100g of meat for the control samples in experiments one and two, respectively. In both experiments, the most abundant acids were oleic and linoleic acids, with average values of 44.16 and 5.53%, and 43.61 and 2.46%, in experiments 1 and 2, respectively, in the samples with antioxidants, against 30.13 and 2.61%, and 39.53 and 1.84%, for the control treatment, respectively. There were no differences between treatments ( $P>0.05$ ) in pH or WRC in experiment 1, yet there were ( $P<0.05$ ) in experiment 2, with the highest pH value (6.7) and lowest WRC (4.28 mL of water retained /100g of meat), for the control samples, compared with those with antioxidants (6.24 and 5.76 mL of water retained /100g of meat), respectively. These results, regardless of the days of aging meat, suggest that the use of forage with tannins, are an alternative to the use of vitamin E as antioxidants in sheep meat, extending the shelf life through the reduction of lipid and protein oxidation of the meat. They also contribute to the increase of the main unsaturated fatty acids in the meat.

**Key words:** sheep, Pelibuey, antioxidants, tannins, oxidative stability.

#### 4.3. **Introducción**

En la actualidad la demanda del consumidor por productos de calidad e inocuos ha crecido a consecuencia de las enfermedades que se presentan en el ser humano, y que son hasta cierto punto importantes que en ocasiones pueden causar la muerte, tal es el caso de aquéllas relacionadas con problemas de hipertensión, diabetes, y cáncer (Avello y Suwalsky, 2011). Particularmente la industria cárnica se ha obligado a implementar métodos para obtener ese tipo de productos, con especial referencia a los ácidos grasos y vida de anaquel de la carne, que ocupan el eje central en la investigación hoy en día (Acevedo, 2004). En la primera década del siglo XXI se han realizados estudios donde la vitamina E y selenio adicionados a la dieta de rumiantes, mejoran las características físico-químicas y vida de anaquel en carne de bovinos (Liu *et al.*, 1996; Faustman *et al.*, 1998). Sin embargo, todo ello representa costos extras de producción, por lo que alternativas como incluir forrajes en la dieta, en particular, especies arbóreas, con presencia de taninos, puede ser una opción viable. Esta aseveración nace de los estudios que se han hecho, donde reportan que los taninos, los cuales son compuestos polifenólicos, además de cumplir funciones como antiparasitarios, disminución de metano, y otros, funcionan también como antioxidantes. Por ejemplo, Tiekko *et al.* (2002) usando 0.05 % de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) en la alimentación de cabras, e Inseira *et al.* (2013), empleando 24 a 35% de pulpa de cítricos en corderos, lograron retrasar la oxidación lipídica. Estos resultados, amplían el panorama del potencial que tienen diferentes vegetales, sean estos herbáceos, arbustivos o arbóreos, como fuentes de antioxidantes naturales, y bien pueden ser usados en la industria cárnica. Ante este escenario, y tomando ventaja de la enorme diversidad biológica del país, especialmente en el trópico, donde existen muchas especies arbóreas con potencial forrajero, como el guasimo (*Guazuma ulmifolia*) y el cocuite (*Gliricidia sepiumson*), cuyo contenido de taninos es elevado



(Min *et al.*, 2003; López *et al.*, 2004), se presenta el presente estudio con el objetivo de evaluar el efecto de incluir heno de guasimo y cocuite en diferentes concentraciones, como fuente de taninos en la dieta de borregos Pelibuey en crecimiento, en la oxidación lipídica y proteica de la carne.

#### 4.4. Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo de abril de 2012 a diciembre de 2013, en los laboratorios de Nutrición Animal del Colegio de Postgraduados y de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, ubicados en Montecillo, Texcoco, Edo de México (19° 21' LN, 98° 53' LO, 2250 msnm) y Distrito Federal (19°15'N, 99°10'W, 2780 msnm), respectivamente.

Las muestras de carne utilizadas para este estudio fueron tomadas de dos experimentos previos, realizados por Velázquez (2013) (Experimento 1; Cuadro 9) y Ayala (2013) (Experimento 2; Cuadro 10).

##### 4.4.1. Experimento 1

Se usaron muestras de carne del músculo *Longissimus dorsi*, provenientes de 36 corderos Pelibuey, con peso promedio inicial de  $23.7 \pm 4.6$  kg, y final de  $40.26 \pm 1.6$  kg. Detalles de los animales son descritos por Velázquez (2013), y se resume en que dichos animales fueron distribuidos homogéneamente en 4 grupos de 9 animales cada uno, y alojados en corraletas individuales, en un Diseño Completamente al Azar.

**Tratamientos.** Se probaron cuatro tratamientos (Cuadro 9): dieta testigo (DT), dieta con heno de cocuite (*Gliricidia sepium*) (DGS, taninos 12.3 gr/kg MS), dieta con heno de guácimo (*Guazuma ulmifolia*) (DGU, taninos 24.5 gr/kg MS), y dieta con extracto de quebracho (*Schinopsis balansae*) (DEQ, taninos 20.0gr/kg MS). El aporte de taninos provenía del heno de guasimo, cocuite y extracto de quebracho. Éste último es un producto comercial INDUSOL ATO (Indunor

S.A.C.F.I.F) que contenía 76±1.5% de taninos, 15±1.5 otros compuestos, 8% de humedad, pH de 4.5-5.0, máximo de cenizas 6.5, según certificado.

**Cuadro 9. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales.**

Ingredientes, %	Tratamientos			
	DT	DGS	DGU	DEQ
Heno de cocuite <sup>1</sup>	0.0	20.00	0.00	0.0
Heno de guácimo <sup>1</sup>	0.0	0.0	13.30	0.0
Extracto de quebracho <sup>1</sup>	0.0	0.0	0.00	2.63
Maíz quebrado	48.00	44.00	43.90	43.00
Melaza	6.00	6.00	6.00	8.00
Aceite de rosticería	2.20	1.50	1.80	3.60
Urea	0.60	0.60	0.60	0.60
Harina de carne	1.64	2.75	3.50	3.60
Pasta de soya	11.50	4.80	6.40	10.20
Salvado de trigo	17.35	14.40	18.00	16.00
Rastrojo de maíz	10.50	4.20	4.80	10.20
Calcio textura fina	1.01	0.25	0.50	1.00
Mezcla de minerales <sup>2</sup>	1.20	1.50	1.20	1.17
<b>Composición química</b>				
MS, % <sup>3</sup>	94.24	94.06	93.99	93.78
EM Mcal <sup>4</sup>	2.80	2.80	2.79	2.76
EMm Mcal <sup>4</sup>	1.85	1.56	1.68	1.79
EMg Mcal <sup>4</sup>	1.15	0.97	1.03	1.11
Proteína Cruda, % <sup>3</sup>	15.52	15.40	15.10	15.52
FDN, % <sup>3</sup>	37.74	34.97	31.59	31.24
FDA, % <sup>3</sup>	10.65	14.04	10.56	10.33
Cenizas, % <sup>3</sup>	6.43	7.91	7.11	6.38
Extracto etéreo <sup>3</sup>	5.59	5.28	6.38	5.89
Ca, % <sup>4</sup>	0.85	0.99	0.98	0.86
P, % <sup>4</sup>	0.36	0.31	0.29	0.33
Taninos, %	0.0	2.0	2.0	2.0

DT= dieta testigo; DGS= dieta con heno de *Gliricidia sepium* (cocuite); DGU= dieta con heno de *Guazuma ulmifolia* (guácimo); DEQ= dieta con extracto de quebracho. <sup>1</sup>Se consideró 6.15%, 18.4% y 76% de taninos para heno de cocuite, Guácimo y extracto de Quebracho, respectivamente. <sup>2</sup>Vitalol ovino plus: 24, 3, 2, 8, 12, 0.50, 0.50, 0.50 % de calcio, fósforo, magnesio, sodio, cloro, potasio, azufre y antioxidante, respectivamente; 2000, 5.00, 4000, 2000, 5000, 100, 30 y 60 ppm de lasolacida, cromo, manganeso, hierro, cinc, yodo, selenio y cobalto, respectivamente; 500,000, 150,000, 1000 UI de vitamina A, vitamina D y vitamina E, respectivamente. <sup>3</sup>Datos de análisis en laboratorio. <sup>4</sup>Datos de tablas NRC 2007.

#### 4.4.2. Experimento 2

Se utilizaron muestras de carne del músculo *Longissimus dorsi* de 28 corderos Pelibuey, con peso promedio inicial de  $23.6 \pm 1.0$  kg, y final de  $39.0 \pm 0.5$  kg. Detalles de los animales son descritos por Ayala (2013), y se resume en que dichos animales fueron distribuidos homogéneamente en 4 grupos de 7 animales cada uno, y alojados en corraletas individuales, en un Diseño Completamente al Azar.

**Tratamientos:** Se evaluaron cuatro tratamientos (Cuadro 10): 1) dieta testigo, 2) dieta con 1.5% de taninos, 3) dieta con 2.5% de taninos, y 4) dieta con 1,000 UI/ vit. E. Los taninos provenían de incluir harina de guásimo (*Guazuma ulmifolia*) en las dietas experimentales.

Ambos experimentos se llevaron a cabo en la Granja Experimental del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Estado de México. Los animales fueron sacrificados en un rastro TIF. Las muestras de carne fueron empacadas al alto vacío (empacadora al vacío Torrey<sup>R</sup> modelo EVD-2C76), y almacenadas en una cámara de refrigeración a 4°C, durante 1, 7, 14, 21 y 28 días, para el respectivo proceso de maduración. A medida que se cumplían los respectivos tiempos de maduración establecido, se tomaron submuestras para análisis de oxidación. El resto de las muestras se almacenaron a -28°C, para el posterior análisis del perfil de ácidos grasos.

Para el análisis estadístico, en ambos experimentos se utilizó un diseño completamente al azar, usando el procedimiento PROC GLM del programa SAS (SAS, 2010) y la prueba de Tukey para la separación de medias. El modelo utilizado fue  $Y_{ij} = \mu + T_i + P_j + E_{ij}$ , donde Y es la variable de respuesta en el tratamiento i-ésimo,  $\mu$  es la media general,  $T_i$  es el efecto del i-ésimo tratamiento (i=1, 2, 3, 4),  $P_j$  es el efecto del j-ésimo día de maduración, y  $E_{ij}$  es el error experimental.

**Cuadro 10. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales.**

	<b>Tratamientos</b>			
	Testigo	1.5% taninos	2.5% taninos	Vit. E
<b>Ingredientes (%)</b>				
Maíz	40.17	40.00	40.00	40.17
Pasta de soya	23.23	20.25	18.24	23.23
Rastrojo de maíz	30.00	21.48	15.65	30.00
Melaza	3.00	3.00	3.00	3.00
Aceite de soya	1.00	1.00	1.00	1.00
Minerales*	2.00	2.00	2.00	2.00
Urea	0.60	0.60	0.60	0.60
Guácimo	0	11.67	19.51	0
<b>Composición química</b>				
Materia seca (%)	85.73	86.45	86.69	85.69
Proteína (%)	20.17	19.95	19.33	20.20
Cenizas (%)	7.50	7.52	7.89	7.73
Extracto Etéreo (%)	4.22	3.75	3.94	4.11
FDN (%)	18.70	18.42	17.88	19.24
FDA (%)	12.15	14.26	12.69	12.01

\*Mezcla mineral: *Vitasal Ovino Plus*: 24, 3, 2, 8, 12, 0.50, 0.50, 0.50 % de Ca, P, Mg, Na, Cl, K, S y antioxidante; 2000, 5.0, 4000, 2000, 5000, 100, 30 y 60 de Cr, Mn, Fe, Zn, I, Se y Co; 500000, 150000 y 1000 UI de vitaminas A, D y E, respectivamente. FDN, fibra detergente neutro; FDA, fibra detergente ácido.

#### 4.4.3. Variables evaluadas

##### *pH de la carne*

Para analizar el pH de la carne se pesaron 10 g de carne, y se colocaron en un vaso de ensaye en donde se le añadieron 100 mL de agua destilada, y se molió en una licuadora durante un minuto. La suspensión de carne se filtró en manta de cielo para eliminar el tejido conectivo, y posteriormente el pH se leyó en un potenciómetro, lavando el electrodo cuidadosamente con agua destilada entre mediciones (Guerrero *et al.*, 2002). Las mediciones se hicieron por triplicado.

### ***Capacidad de retención de agua***

Para determinar la capacidad de retención de agua (CRA), 10 g de carne fueron finamente picados, la cual se dividió en dos submuestras de 5 g, mismas que se colocaron en un tubo de ensayo dentro de una centrífuga. A cada tubo se le añadió 8 ml de solución de NaCl 0.6 M, y se agitó con una varilla de vidrio durante un minuto. Posteriormente los tubos se colocaron en baño de hielo durante 30 minutos, y se agitaron durante un minuto. Pasado el tiempo de reposo se centrifugaron durante 15 minutos a 10 000 rpm. El sobrante se decantó en una probeta y se midió el volumen, el cual representa el agua no retenida. Para esta variable se reportó la cantidad de mL de solución retenida por 100 g de carne (Guerrero *et al.*, 2002).

### ***Oxidación lipídica de la carne mediante la técnica de TBARS***

El método se basa en la determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). En un homogenizador IKA T 18 Ultra Turrax (Staufen Alemania) se homogenizaron 5 g de carne con 20mL de una solución de ácido tricloroacético (TCA) al 5%. Para ello se usaron 5g de TCA y se aforó en 1000 mL de agua destilada. Dicha mezcla se centrifugó a 10000 rpm durante 15 min a 4°C, y posteriormente se filtró en papel Whatman No. 4. El filtrado se colectó en tubos ependorf de 2.5 mL, por duplicado, y se almacenó a -30 °C para su posterior análisis. Para preparar el ácido tiobarbitúrico (TBA) (80mN), se pesaron 1.648 de ácido tiobarbitúrico y se aforó en 100 mL de agua destilada. En tubos de ensaye con tapa rosca se tomó 1mL del extracto y se le adicionó 1mL de TBA a 80mM, aplicando un tratamiento térmico a 95°C durante 30 min. Posteriormente se dejó enfriar para su posterior lectura en un lector de placas Biotek Synergy HT (Vertmont, USA) a una absorbancia de 530nm siguiendo la técnica de Raharjo *et al.* (1992) y modificada por

Hernández (2013). Los resultados se reportan en mg de malonaldehído (MDA)/kg de carne utilizando el coeficiente de extinción molar de  $1.56 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ .

### ***Oxidación proteica de la carne mediante el método DNPH***

El método se basa mediante la determinación de carbonilos totales. Para ello, primeramente se obtuvo un extracto de la muestra de la carne, utilizando un homogenizador IKA T 18 Ultra Turrax (Staufen Alemania): se homogenizaron 2 g de carne con 30 mL de buffer de pirofosfatos de sodio a pH de 7.4, y se centrifugó durante 15 min, a 10,000 rpm a 4°C en una centrifuga 5810R ependorf (Hamburgo, Alemania). La mezcla de dichos componentes, se filtró con papel Wathman No. 4, y colectó en tubos ependorf de 2.5 ml, que conformó el extracto, y posteriormente se congelaron a -30° C para su posterior análisis.

*Buffer de pirofosfatos de sodio pH 7.4.* Para la preparación del buffer se pesaron y mezclaron 8.92g de  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , 2.37g de Trismaleato, 7.45 de KCl (cloruro de potasio), 0.406g de  $\text{MgCl}_2$  (cloruro de magnesio), y 0.76g EGTA. Posteriormente, dichos reactivos se disolvieron en 750 mL de agua destilada, ajustando el pH a 7.4, y aforándose a 1000 mL. El buffer se conservó en refrigeración a 4°C. Posteriormente, se procedió a realizar la prueba del DNPH (2,4-Dinitrophenylhydrazine). Para ello, se pesaron 0.05g de DNPH y se aforó a 25 mL con HCl 2N. Esta solución se preparó diariamente, manteniéndola en refrigeración a 4°C y en cuarto oscuro cuando no se usaba.

Del extracto homogenizado se tomaron dos alícuotas de 0.1 mL en tubos ependorf, a las cuales se les adicionó 1mL ácido tricloroacético (TCA) al 10%, y se centrifugaron por 5 min a 5000 rpm. El sobrenadante se eliminó y se dejaron los pellets, los cuales quedan al fondo del ependorf. Al

primero tubo se le adicionó 1 ml de HCL 2N y fue etiquetado como muestra A. Al segundo tubo se le adicionó 1mL de DNPH al 2% en HCl 2N y fue etiquetado como muestra B. Los tubos se incubaron en la oscuridad durante una hora a temperatura ambiente agitando cada 15 min. Una vez transcurrido este tiempo se le adicionó a cada tubo 1 mL de TCA al 10% y se volvió a centrifugar a 5000 rpm durante 2 min. Posteriormente el precipitado (los pellets) se lavó con 1mL de etanol/acetato de etilo1:1, se agitó y se suspendió en 1.5 mL de buffer de fosfatos 20 mM a pH 6.5 con hidrocloreuro de guanidina 6M. Utilizando un lector de placas Biotek Synergy HT (Vertmont, USA), se calculó la concentración de proteína a 280 nm de la muestra que se etiquetó como A, usando como estándar albumina de huevo. Con esa información se calculó el contenido de carbonilos en la muestra B a 370 nm utilizando el coeficiente de extinción molar para las hidrazonas ( $21 \text{ Mm}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ). Los resultados se expresaron por nmol de carbonilos por mg de proteína. Técnica basada en Armenteros *et al.* (2009) y modificada por Hernández (2013).

### ***Capacidad antioxidante de la carne por el método DPPH***

El método DPPH se basa en la reducción del radical DPPH<sup>\*</sup> por los antioxidantes presentes en la muestra de carne. La reacción se realizó conforme a lo reportado por Padilla *et al.* (2008) y modificado por Hernández, (2013). Para lo cual se tomó una alícuota de 927  $\mu\text{L}$  de la disolución del radical DPPH<sup>\*</sup> (2.025g/L) en solución metanólica y 25  $\mu\text{L}$  del extracto de la muestra. Posterior a este paso, se leyó la absorbencia inicial ( $A_{t=0}$ ) a 515nm, y después dicha absorbencia se midió a los 25 min ( $A_{t=25}$ ), usando un lector de placas Biotek Synergy HT (Vertmont, USA). La curva de calibración fue realizada con Trolox en concentraciones de 300 a 1600  $\mu\text{L}$ . Los resultados se expresan en mg de Trolox/100g de carne.

### ***Capacidad antioxidante de la carne por el método FRAP***

El método FRAP se basa en el poder de reducción del hierro de la forma férrica a ferrosa, con 2-4-6 tripiridil-s-triazina (TPTZ). La determinación se realizó de acuerdo con Descalzo y Sancho (2008) y modificado de acuerdo con Hernández (2013). Para ello, se tomó una alícuota de 7  $\mu\text{L}$  del extracto de buffer de acetatos a la cual se le adicionó 273  $\mu\text{L}$  de una solución de FRAP (2.5  $\mu\text{L}$  de TPTZ 10Mm en HCL 40 Mm 2.5 mL de  $\text{FeCl}_3$  20Mm y 25 mL de buffer de acetatos 0.3Mm a pH 3.6). Se utilizó un blanco espectro con TPTZ y un blanco reacción compuesto por la disolución de FRAP junto con el buffer con el que se homogenizó la muestra. Se utilizó un lector de placas y las absorbencias se determinaron a 593nm. Las lecturas se tomaron a los 6 min de iniciada la reacción. La curva estándar se realizó con Trolox de 20 a 150  $\mu\text{M}$ . Los resultados se expresan en  $\mu\text{M}$  de Trolox /100g de carne.

### ***Obtención del extracto de la carne y buffers para determinar actividad antioxidante***

Para el extracto de la carne, se utilizaron 5g de carne con 25mL de Buffer de fosfatos (20 mM, pH 6.5) y se homogenizaron en un homogenizador IKA T18 Ultra Turrax para DPPH y Buffer de acetatos (0.3 M pH 3.6) y FRAP. Una vez homogenizado se centrifugó durante 15 min, a 10,000 rpm a 4°C, en una centrifuga 5810R ependorf, Hamburgo, Alemana. Después de centrifugar, la muestra se filtró con papel Wathman No. 4, colectando el filtrado en tubos ependorf de 2.5 ml y se congelaron a una temperatura de -30° C para su posterior análisis.

Para el Buffer de acetatos 0.3 M pH 3.6 (250 mL) se pesó 0.612g de acetato de sodio y se tomó 4.027 mL de ácido acético concentrado (la mezcla se realizó dentro de la campana)



posteriormente se adicionaron 200 mL de agua destilada, ajustando la mezcla a un pH 3.5 y se aforando a 250 mL.

Para el Buffer de fosfatos 20 mM pH 6.5 con 6M hidroclicloruro de Guanidina (500 mL), se pesó 1.155g de fosfato de sodio monobásico y se mezcló con 0.581g de fosfato de sodio dibásico. Dicha mezcla se disolvió con 400 mL de agua destilada, ajustándose a un pH 6.5, y posteriormente se aforó a 500mL. Después se pesaron 286.59g de hidroclicloruro de guanidina y diluyeron en los 500 mL del buffer de fosfato de sodio a pH 6.5. Los buffers se prepararon cada semana y se conservaron en refrigeración a 4°C.

#### ***Determinación de perfil de ácidos grasos de la carne por cromatografía de gases***

Los ácidos grasos de las muestras de carne se cuantificaron por cromatografía de gases (Hewlett Packard GC system 6890+;Wilmington, DE) con inyector automático equipado con un detector por ionización de flama y una columna capilar de sílica SP-2560 (100 m, 0.25 mm d.i. con una cubierta de 0.2 µm de grosor, Supelco Inc., Bellefonte, PA). La temperatura inicial del horno (80 °C) se sostuvo por 28 min y después se incrementó a una tasa de 2 °C min<sup>-1</sup> hasta los 190°C donde se sostuvo por 20 min. Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 250 °C. El gas acarreador fue Helio y el aire a 350° por minuto y el hidrogeno a 250° min. Los picos en los cromatogramas fueron identificados y cuantificados usando un estándar de SUPELCO catalogo No. 18918-1AMP.

Para realizar ello, se tomaron 50 g muestra del músculo *longissimus dorsi*, se picaron finamente y se colocaron en cajas de Petri de cristal de 150 x 15 mm donde se liofilizaron durante tres días (el primer día a 35°C, después a 25°C y finalmente a 15°C). Una vez liofilizadas, las muestras se

trituran hasta hacerlas polvo, se colocaron en bolsas ziploc y se mantuvieron en refrigeración a 4° C, evitando que se humedecieran, para su posterior análisis. Para preparar la muestra se pesaron 0.15g de carne leofilizada en polvo y se colocaron en tubos de ensaye donde se le agregó 2 mL Hexano, posteriormente se agitó en un vortex durante 1 min y se llevaron a baño ultrasónico durante 15 minutos para romper la membrana. Posteriormente, la muestra se tapó y se dejó reposar en refrigeración a 4°C durante 24 horas. Pasado el tiempo de reposo, el sobrenadante se retiró y se centrifugó nuevamente para quitar los residuos de la carne. En otro tubo de ensaye se colocó 1mL de extracto y se le agregó 1.5 mL de NaCl a 0.9% y, nuevamente, se agitó vigorosamente y se dejó reposar aproximadamente un minuto hasta observar la separación de las soluciones (hexano - H<sub>2</sub>O +NaCl 0,9%). La solución de hexano (sobrenadante) se pasó a un eppendorf, de 2mL y se centrifugó durante 5 minutos a 3 000 rpm. Posteriormente se tomó 1 mL del sobrenadante y se colocó en otro tubo eppendorf y se le agregó 1mL de KOH. La mezcla se agitó y se obtuvo un nuevo sobrenadante el cual se colocó en viales de tapa azul para posteriormente ser leídos en un cromatógrafo de gases. La determinación se realizó con una modificación a la técnica que reporta el AOAC (2005).

#### 4.5. **Resultados y discusión**

##### ***pH de la carne***

Los resultados de pH de la carne se muestran en el Cuadro 11, el cual no fue diferente ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos en el experimento 1, pero sí en el experimento 2 ( $P < 0.05$ ), del día 14 al día 21 de maduración. Aquellas muestras de carne bajo los tratamientos de taninos y vitamina E, tuvieron valores menores de pH, comparado con el testigo, debido a la concentración de antioxidantes presentes en el músculo, ya que de acuerdo a De la Fuente *et al.* (2005), el adicionar antioxidantes en la dieta de finalización baja la actividad del estrés oxidativo evitando

descontroles en el pH final de la carne, situación que pudo haber sucedido en el presente estudio, por la adición de harina de guasimo y cocuíte como fuentes de taninos, así como la vitamina E, como antioxidantes. Es pertinente mencionar que en el experimento 1, al día 14 de maduración, los valores de pH fueron más bajos que en el experimento 2, con promedio de 5.93, aún aceptables para considerarse una carne en buen estado, según Garrido *et al.* (2005). En contraste, en el experimento 2, para el mismo día 14, el pH promedió 6.38, y pudiera ser indicativo de susceptibilidad a deterioro microbiano, dado que la estabilidad bacteriológica de la carne es un factor dependiente del pH y la misma disminuye cuando el pH es superior a 5.5 (Hargreaves *et al.*, 2004). Sin embargo, a pesar de estos valores altos de pH encontrados en las muestras de carne, y que pudieran señalarse adecuado para el crecimiento de bacterias como *Enterococcus*, *Pseudomonas*, y *Psychrobacter*, principalmente, mismas que en su mayoría son intolerantes a la acidez, no se encontraron indicios de putrefacción, sino hasta a partir del día 21 de maduración de la carne. Es posible que el ácido láctico acumulado en los músculos producto del *rigor-mortis*, cuyo efecto es preservar y conservar la carne, haya sido el suficiente para evitar la proliferación de microorganismos (Solís, 2005), aunque desafortunadamente el aspecto microbiológico no fue determinado en este estudio.

El pH es una variable que puede actuar como indicador de cambios fisicoquímicos de la carne, y de acuerdo con los valores obtenidos *ante-mortem*, se le relaciona con el tipo de carnes. Por ejemplo, caídas de pH por debajo de 5.4 o bien por arriba de dicho valor, generan carnes pálidas blandas y exudativas (PSE) en los primeros 45 min *post-mortem*, y carnes duras, secas y oscuras (DFD) con un pH superior a 6 después de las 12 - 48 h *post-mortem*, respectivamente (Garrido *et al.*, 2005).

**Cuadro 11. Medias de pH de carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta.**

*Experimento 1*

Días de maduración	Tratamiento					EEM	P valor
	Testigo	Cocuite	Guásimo	Quebracho			
1	5.59	5.51	5.56	5.31		0.611	0.219
7	5.61	5.53	5.6	5.54		0.222	0.071
14	5.98	5.94	5.89	5.94		0.013	0.061
21	6.91	6.85	6.88	6.89		0.249	0.089
28	7.19	6.98	6.99	7.17		0.042	0.191

*Experimento 2*

Días de maduración	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Vit.E 1000 UI	1.50% Taninos	2.50% Taninos		
1	5.69	5.41	5.68	5.51	0.111	0.071
7	5.95	5.63	5.98	5.99	0.229	0.167
14	6.55 <sup>a</sup>	5.82 <sup>b</sup>	6.59 <sup>a</sup>	6.09 <sup>b</sup>	0.362	0.037
21	6.82 <sup>b</sup>	6.33 <sup>a</sup>	6.30 <sup>a</sup>	6.33 <sup>a</sup>	0.124	0.044
28	7.01	6.61	6.55	6.61	0.034	0.258

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; 1.5 y 2.5%, de heno de *Guzuma ulmifolia*.

***Capacidad de retención de agua de la carne***

Las medias de la capacidad de retención de agua (CRA) de la carne se muestran en el Cuadro 12, mismas que no fueron diferentes entre tratamientos ( $P > 0.05$ ) para el caso del experimento 1, pero sí ( $P < 0.05$ ) para el experimento 2, donde a partir del día 14 de maduración de la carne, aquéllas muestras del tratamiento testigo, perdieron hasta 65.0% del total de agua. Al día 28 de maduración, el comportamiento de la CRA fue similar, con pérdida de 69.15% del agua para

aquellas muestras de carne con vitamina E, seguidas por las muestras que contenían un 2.5 y 1.5% de taninos, con pérdidas de agua del 85.26 y 85.48%, respectivamente y, finalmente, las muestras del tratamiento testigo que perdieron hasta 89.31% de agua. Esto posiblemente ocurrió por la concentración de antioxidantes en las muestras de carne, quienes cediendo sus electrones mantuvieron íntegra la membrana celular impidiendo la lisis de ésta y reteniendo el agua (Romero *et al.*, 2003).

De esto se puede inferir que a mayor cantidad de antioxidantes, menor pérdida de agua, y que los antioxidantes incluidos en la dieta a través de los taninos a concentraciones 1.5% y 2.5%, disminuyeron hasta 4.1% de pérdida de agua, al día 28 de maduración, en comparación a las muestras que no contenían ningún tipo de antioxidantes, siendo la suplementación con vitamina E que retuvo 20.16% más de agua, en comparación con la muestra testigo. Al respecto, en el pasado se ha reportado que la capacidad de retención de agua en carne está altamente relacionada con la integridad de las membranas, de tal forma que cuando hay antioxidantes en músculo éstos no permiten la destrucción de la membrana celular evitando la fuga de agua (Price y Schweigert, 1994; Liu *et al.*, 1995).

### ***Oxidación lipídica de la carne***

Las medias de la oxidación lipídica se muestran en el Cuadro 13, donde se puede observar que tanto en el experimento 1 como en el 2, suplementando diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta de corderos, no provocó diferencias significativas ( $P>0.05$ ), del día 1 al día 14 de maduración. Sin embargo, es interesante observar que los valores más altos de oxidación de la carne se encontraron en el experimento 1, cuyo promedio entre tratamientos fue de 0.082 a 3.13

mg/MDA/kg de carne, comparado con 0.075 a 2.45 mg/MDA/kg de carne, en el experimento 2, para los mismos días: del día 1 hasta el día 14 de maduración, respectivamente.

**Cuadro 12. Medias de la capacidad de retención de agua (mL de agua retenida/100 g de carne) en carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta.**

<i>Experimento 1</i>						
Días de maduración	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Cocuite	Guásimo	Quebracho		
1	22.22	22.14	22.18	22.11	0.212	0.711
7	19.73	19.68	19.71	19.49	0.222	0.213
14	17.51	16.69	16.73	16.84	0.413	0.131
21	7.53	7.99	7.95	7.98	0.047	0.109
28	4.79	4.77	5.01	4.71	0.542	0.231

<i>Experimento 2</i>						
Días de maduración	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Vit. E	1.50%	2.50%		
		1000 UI	Taninos	Taninos		
1	18.79	18.99	18.63	18.92	0.162	0.421
7	17.68	18.04	17.59	17.71	0.392	0.214
14	6.51 <sup>b</sup>	10.07 <sup>a</sup>	6.73 <sup>b</sup>	6.46 <sup>b</sup>	0.131	0.011
21	4.34 <sup>b</sup>	8.18 <sup>a</sup>	4.49 <sup>b</sup>	4.52 <sup>b</sup>	0.241	0.027
28	2.01 <sup>b</sup>	5.86 <sup>a</sup>	2.71 <sup>b</sup>	2.79 <sup>b</sup>	0.282	0.031

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; 1.5 y 2.5%, de heno de *Guzuma ulmifolia*.

Valores similares (2.85 a 3.00 mg/MDA/kg de carne) fueron reportados por Narsi *et al.* (2012), al emplear extracto de *Quillaja saponaria*, alto en polifenoles, en la alimentación de borregos, encontrando que la mayor expresión de los antioxidantes provenientes de polifenoles se encuentran al día 14 de maduración de la carne. Del día 21 al 28 de maduración, tanto en el experimento 1 como en el 2, la oxidación lipídica fue diferente ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos significativamente. Es pertinente resaltar que en el experimento 1 las muestras de carne del tratamiento testigo presentaron mayor oxidación lipídica, alcanzando valores de 6.97 mg/MDA/kg de carne en el día 28 de observación, en comparación con aquellas muestras de carne con tratamientos de taninos a través del cocuite, guasimo y quebracho, con valores de 3.22, 3.91, y 4.71 mg/MDA/kg de carne, respectivamente, siendo las muestras de los tratamientos con cocuite la que presentaron menor oxidación lipídica, con 46.19 % menos con respecto al tratamiento testigo, posiblemente por la alta concentración de taninos en dichas especies arbóreas, ejerciendo así su poder antioxidante (Armenteros *et al.*, 2012). En el experimento 2, los valores de oxidación lipídica al día 28 de maduración fueron mayores que en el experimento 1, siendo el tratamiento con vitamina E, el que presentó mejor respuesta a la oxidación lipídica, con valor de 5.25 mg/MDA/kg de carne, seguido por los tratamientos con 2.5% y 1.5% de taninos, sin haber diferencias estadísticas entre estos dos últimos, con valores de 7.81 y 7.71 mg/MDA/kg de carne, respectivamente, comparado con 8.19 mg/MDA/kg de carne, para las muestras del tratamiento testigo. Cabe destacar que las muestras de carne de los tratamientos con taninos al 1.5 y al 2.5% tuvieron 5.98 % menor oxidación lipídica que aquellas con el tratamiento testigo al día 28 de maduración, mientras que aquellas con vitamina E, hubo 35.89% menor oxidación con respecto a las testigo, a consecuencia que la vitamina E es un antioxidante de amplio espectro como lo indica Liu *et al.* (1996, 2009).

**Cuadro 13. Medias de TBARS (mg/MDA/kg de carne) en carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta.**

*Experimento 1*

Días de maduración	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Cocuite	Guásimo	Quebracho		
1	0.079	0.081	0.084	0.084	0.061	0.621
7	1.03	1.04	1.02	1.02	0.121	0.721
14	3.24	2.61	3.75	2.93	0.113	0.133
21	6.25 <sup>a</sup>	2.98 <sup>c</sup>	4.04 <sup>b</sup>	2.93 <sup>c</sup>	0.424	0.029
28	6.97 <sup>a</sup>	3.22 <sup>c</sup>	4.75 <sup>b</sup>	4.71 <sup>b</sup>	0.642	0.021

*Experimento 2*

Días de maduración	Testigo	Tratamiento			EEM	P valor
		Vit. E 1000 UI	1.50% Taninos	2.50% Taninos		
1	0.065	0.079	0.078	0.081	0.161	0.421
7	1.72	1.72	1.69	1.69	0.322	0.111
14	2.38	2.54	2.45	2.43	0.413	0.131
21	6.98 <sup>a</sup>	2.97 <sup>a</sup>	6.14 <sup>b</sup>	6.22 <sup>b</sup>	0.224	0.029
28	8.19 <sup>a</sup>	5.25 <sup>b</sup>	7.81 <sup>a</sup>	7.71 <sup>a</sup>	0.672	0.021

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; 1.5 y 2.5%, de heno de *Guzuma ulmifolia*; TBARS, ácido tiobarbitúrico; MDA, Malonaldehído.

Este comportamiento lleva a deducir que utilizando cualquiera de las dos concentraciones de taninos, al 1.5 o al 2.5% en la dieta, genera el mismo efecto antioxidante, pero no sabemos qué concentración podría arrojar mejores resultados. Al respecto, Tieko *et al.* (2002), utilizando 0.05% de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*), como fuente de antioxidantes naturales en cabras, redujeron la oxidación lipídica al procesar la carne, de la misma forma como hicieron



Cullere *et al.* (2013), al usar 0.25%, 0.5% y 1% de extracto rooibos (*Asparlathus linearis*) en ovinos. De la misma manera, en carne de ovinos se logró disminuir la oxidación lipídica cuando se agregaron alfalfa, frijol de soya, linaza, y desechos de uva a la dieta de borregos (Priolo *et al.*, 2007; Luciano *et al.*, 2012).

### ***Oxidación proteica de la carne***

Las medias de valores de la oxidación proteica se presentan en el Cuadro 14. No hubo diferencias significativas ( $P>0.05$ ) entre tratamientos el día 1 y 7 de maduración en ambos experimentos, con valores promedio de 0.015 y 0.048, y 0.014 y 0.045 Nm/H/mg proteína, respectivamente. Lund *et al.* (2007) encontraron valores similares a los reportados con promedios de 0.018 y 0.047 Nm/H/mg proteína, en carne de cerdo en los mismos días de maduración utilizando aceite de soya. En contraste, a partir del día 14 al día 28 de maduración, se observaron diferencias significativas ( $P<0.05$ ) entre tratamientos, en ambos experimentos los valores más altos al día 28 de maduración, con un promedio de 0.412 Nm/H/mg proteína, para las muestras testigo, y 0.193 Nm/H/mg proteína, para las muestras con taninos en el experimento 1. Estos valores son muy similares a los obtenidos en el experimento 2, con 0.421 y 0.196 Nm/H/mg proteína para las muestras testigo y con taninos, respectivamente. Estos resultados sugieren mayor oxidación proteica en aquellos tratamientos donde no se incluyó ningún tipo de antioxidantes en la alimentación de los animales, por lo que se confirma el potencial antioxidante que tienen los taninos. En ambos experimentos, la oxidación proteica tiene similar comportamiento a los resultados de la oxidación lipídica. Según Xiong (2000), esta aparente relación entre la concentración de malonaldehído y la concentración de carbonilos presentes en la muestras de carne, indica la probabilidad que algunos compuestos dicarbonílicos derivados de la oxidación

lipídica, probablemente malonaldehído, formen compuestos con proteínas, correlacionándose así la oxidación lipídica con la proteica. A este respecto, Gravador *et al.* (2014), reportaron que la adición de 25 a 35% extracto de pulpa de cítricos deshidratada en la dieta de corderos, retarda la oxidación de lípidos y proteínas de la carne, indicando además, que el frenado de dicha oxidación se liga al deterioro de la carne así como la suavidad y jugosidad de la misma.

Nissen *et al.* (2004); Terevinto *et al.* (2009) y Luciano *et al.* (2013a), encontraron que el extracto de romero y forraje nativo con alta concentración de polifenoles, siendo éstos los encargados de generar los electrones necesarios para estabilizar las moléculas que se oxidan, causaron disminución de la oxidación proteica y lipídica en carne de cerdo y bovino, respectivamente. Esta misma respuesta reportaron Filgueras *et al.* (2010), en bovinos finalizados en pastoreo de praderas mixtas de *Lolium perenne*, *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinaceae*, *Bromus sterilis* y *Taraxacum officinale*. La aparente relación entre la oxidación lipídica y proteica analizando la concentración de carbonilos y TBARS, como lo indica Xion (2000), es por la probabilidad de que algunos compuestos dicarbonílicos derivados de la oxidación lipídica forman compuestos con las proteínas.

### ***Actividad antioxidante de la carne***

En el presente estudio, la actividad antioxidante se determinó por dos métodos (FRAP capacidad reductora de hierro en plasma), la cual determina la capacidad de la muestra para reducir la forma férrica del hierro a la forma ferrosa vía trispiril-s- triazina (TPTZ), y DPPH, que consiste en la reducción del radical 2,2-dipheny 1-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Descalzo y Sancho, 2008).

**Cuadro 14. Medias de DNPH (Nm/H/mg proteína) en carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta.**

*Experimento 1*

Días de maduración	Tratamiento					P valor
	Testigo	Cocuite	Guasimo	Quebracho	EEM	
1	0.015	0.014	0.016	0.015	0.041	0.213
7	0.045	0.051	0.048	0.051	0.222	0.321
14	0.107 <sup>a</sup>	0.061 <sup>b</sup>	0.063 <sup>b</sup>	0.062 <sup>b</sup>	0.113	0.031
21	0.194 <sup>a</sup>	0.109 <sup>b</sup>	0.108 <sup>b</sup>	0.103 <sup>b</sup>	0.043	0.029
28	0.412 <sup>a</sup>	0.191 <sup>b</sup>	0.191 <sup>b</sup>	0.199 <sup>b</sup>	0.242	0.032

*Experimento 2*

Días de maduración	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Vit. E 1000 UI	1.50% Taninos	2.50% Taninos		
1	0.015	0.014	0.016	0.014	0.171	0.251
7	0.048	0.041	0.042	0.049	0.223	0.411
14	0.105 <sup>a</sup>	0.062 <sup>b</sup>	0.064 <sup>b</sup>	0.063 <sup>b</sup>	0.133	0.013
21	0.198 <sup>a</sup>	0.105 <sup>b</sup>	0.106 <sup>b</sup>	0.107 <sup>b</sup>	0.024	0.029
28	0.421 <sup>a</sup>	0.116 <sup>c</sup>	0.197 <sup>b</sup>	0.195 <sup>b</sup>	0.432	0.021

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; 1.5 y 2.5%, de heno de *Guzuma ulmifolia*; H, Hidrozonas; DNPH; 2,4-dinitrofenilhidrozina.

En ambos casos se midieron las concentraciones de trolox un análogo de la vitamina E cuyas medias se muestran en los Cuadros 15 y 16, respectivamente.

Para el caso del FRAP, no hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos en ambos experimentos, en los días 1 y 7 de maduración, con valores promedio de 6.43 y 6.026  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne, y 6.59 y 6.060  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne, para el experimento 1 y 2, respectivamente. Esta situación lleva a concluir que tanto en el experimento 1 como en el 2, al día

7 de maduración aún no hay ataque de radicales libres en las muestras de carne, sugiriendo que los antioxidantes presentes en ese momento son suficientes para mantener tales concentraciones de trolox (Luciano *et al.*, 2012). Sin embargo, a partir del día 14 al 28 de maduración hubo diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ) entre tratamientos en ambos experimentos, donde la actividad reductora empezó a disminuir, siendo las muestras testigo las que disminuyeron a mayor proporción, cayendo de 4.627 a 0.792  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne, en tanto que aquellas de los tratamientos con cocuite, guasimo y extracto de quebracho, cayeron de 5.032, 5.072, y 5.021, a 1.074, 1.082 y 1.101  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne, respectivamente, en experimento 1. Este comportamiento en general representan 27.01% más concentración de antioxidantes en aquellas muestras con taninos en comparación con las testigo. Similar comportamiento se presentó en el experimento 2, con diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) a partir de día 14 de maduración, siendo las muestras testigo las que presentaron menor concentración de trolox al día 28, con valores de 0.688  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne, en comparación con las muestras con taninos que promediaron 1.080  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne, en tanto que aquellas con vitamina E, presentaron mayor concentración de trolox al final del experimento, con 2.092  $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne. Lo anterior explica la aparente analogía que tiene la vitamina E con el trolox, encontrando mayor concentración en aquellas muestras de carne que fueron tratadas con vitamina E, teniendo éstas la mejor respuesta antioxidante. Al respecto, Aouadi *et al.* (2014), usando las técnicas de FRAP y TBARS demostraron que alimentando a corderos con tomillo (*Artemisia herba*) y romero (*Rosmarinus officinalis*) *ad libitum* durante 95 días, mejoró la estabilidad oxidativa y disminuyó la oxidación lipídica de la carne. Usando la misma técnica, Petron *et al.* (2006), demostraron mayor estabilidad oxidativa y menor oxidación proteica en carne de corderos alimentándolos *ad libitum* durante 83 días con *Intensive ryegrass*, *Botanically diverse* y *Leguminosa rich*. Por otro lado, Pennisi *et al.* (2010), encontraron en carne de res para hamburguesas que la vitamina E, en relación al uso orégano y romero, como fuentes de antioxidantes, mantuvo por mayor tiempo la estabilidad oxidativa de la carne, comportamiento que sucedió en éste estudio. Sin duda alguna la estabilidad oxidativa de la carne de los tratamientos que tuvieron alguna fuente de antioxidante

como los taninos y la vitamina E en el presente estudio, estabilizaron los radicales libres generados por la luz y/o el oxígeno, generando sus electrones hasta alcanzar una estabilidad electroquímica (Avello y Suwalsky, 2011).

**Cuadro 15. Valores de la actividad antioxidante – FRAP ( $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne), en carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta.**

*Experimento 1*

Días en maduración	Tratamiento					P valor
	Testigo	Cocuite	Guásimo	Quebracho	EEM	
1	6.393	6.421	6.435	6.497	0.313	0.161
7	6.001	6.022	6.015	6.067	0.125	0.073
14	4.627 <sup>b</sup>	5.032 <sup>a</sup>	5.072 <sup>a</sup>	5.021 <sup>a</sup>	0.282	0.038
21	1.031 <sup>b</sup>	2.381 <sup>a</sup>	2.431 <sup>a</sup>	2.277 <sup>a</sup>	0.165	0.014
28	0.792 <sup>b</sup>	1.074 <sup>a</sup>	1.082 <sup>a</sup>	1.101 <sup>a</sup>	0.177	0.011

*Experimento 2*

Días en maduración	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Taninos	Vit. E	Pastoreo		
1	6.106	6.512	6.889	6.821	0.241	0.078
7	6.02	6.082	6.743	6.067	0.611	0.061
14	1.394 <sup>c</sup>	5.611 <sup>b</sup>	6.001 <sup>a</sup>	5.491 <sup>b</sup>	0.413	0.019
21	1.001 <sup>b</sup>	3.297 <sup>a</sup>	3.096 <sup>a</sup>	3.303 <sup>a</sup>	0.351	0.044
28	0.788 <sup>c</sup>	1.076 <sup>b</sup>	1.492 <sup>a</sup>	1.084 <sup>b</sup>	0.678	0.014

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; 1.5 y 2.5%, de heno de *Guzuma ulmifolia*; FRAP, capacidad reductora de hierro en plasma.

Con respecto a la determinación de actividad antioxidante vía DPPH (2, 2,-difeníl 1-picril hidroxilo) (Cuadro 8), los resultados presentaron comportamiento similar al determinado por el método FRAP, y en resumen, la capacidad antioxidante de las muestras que contenían taninos fue

mayor que las muestras testigo en ambos experimentos, del día 14 al 28 de maduración, con menor ( $P < 0.05$ ) oxidación en aquellas muestras de carne con taninos y vitamina E, es decir, los que presentaron mayor actividad antioxidante, indicativo de mayor concentración de antioxidantes en la muestra de la carne, y conforme transcurre el tiempo de almacenamiento, dicha actividad tiende a disminuir, como reportaron Descalzo y Sancho (2008) y Priolo *et al.* (2007).

**Cuadro 16. Valores de la actividad antioxidante – DPPH ( $\mu\text{M}$  Trolox /100g de carne), de carne de borrego alimentados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en la dieta.**

<i>Experimento 1</i>						
Días en maduración	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Cocuite	Guásimo	Quebracho		
1	19.013 <sup>b</sup>	23.952 <sup>a</sup>	23.018 <sup>a</sup>	23.767 <sup>a</sup>	0.512	0.035
7	17.441 <sup>b</sup>	21.871 <sup>a</sup>	21.639 <sup>a</sup>	21.599 <sup>a</sup>	0.318	0.027
14	16.001	16.072	16.102	15.999	0.222	0.063
21	10.022 <sup>b</sup>	15.731 <sup>a</sup>	15.616 <sup>a</sup>	15.497 <sup>a</sup>	0.701	0.045
28	0.708 <sup>b</sup>	1.511 <sup>a</sup>	1.551 <sup>a</sup>	1.544 <sup>a</sup>	0.699	0.041

<i>Experimento 2</i>						
Días en maduración	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Taninos	Vit. E	Pastoreo		
1	18.992 <sup>c</sup>	23.081 <sup>b</sup>	25.932 <sup>a</sup>	23.197 <sup>b</sup>	0.103	0.015
7	16.761 <sup>c</sup>	19.111 <sup>b</sup>	25.005 <sup>a</sup>	18.777 <sup>b</sup>	0.323	0.010
14	16.001 <sup>c</sup>	17.871 <sup>b</sup>	23.212 <sup>a</sup>	17.021 <sup>b</sup>	0.312	0.047
21	12.033 <sup>b</sup>	12.021 <sup>b</sup>	13.776 <sup>a</sup>	13.807 <sup>a</sup>	0.201	0.012
28	0.482 <sup>c</sup>	1.189 <sup>b</sup>	4.622 <sup>a</sup>	1.024 <sup>b</sup>	0.778	0.010

<sup>a,b</sup> Medias con literales diferentes entre columnas son diferentes estadísticamente ( $P < 0.05$ ); EEM, Error estándar de la media; 1.5 y 2.5%, de heno de *Guzuma ulmifolia*; DPPH; 2,2-diphenyl-1-picrilhidrazil.

Humada *et al.* (2013) encontraron mayor contenido de vitamina E en carne de bovinos bajo un sistema de pastoreo extensivo argumentando que esto es debido a la presencia de compuestos polifenólicos en los forrajes, aspecto que justifica que en el presente experimento se haya encontrado mayor concentración de trolox en las muestras de carne que contenían taninos y vitamina E.

### ***Perfil de ácidos grasos en carne***

En el Cuadro 9 se presentan los resultados de los ácidos grasos más comunes. En el experimento 1 no hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos con respecto a la concentración de los ácidos grasos saturados, pero sí ( $P < 0.05$ ) en la concentración de ácidos grasos insaturados, con mayores concentraciones en las muestras de carne de los animales que fueron suplementados con cocuite, guasimo y quebracho, con valores para ácido palmitoleico de 2.85, 2.56 y 2.48%, respectivamente, en comparación con 2.45% para la muestra testigo. De manera similar, el ácido oleico fue mayor en aquellas muestras de carne del tratamiento con guásimo (44.61%), seguidas por las del quebracho y cocuite, con 44.03 y 43.89%, respectivamente, comparadas con 30.13% para las muestras testigo. En el experimento 2, el ácido mirístico, esteárico y heptadecanoico no fueron diferentes entre tratamientos ( $P > 0.05$ ), pero sí ( $P < 0.05$ ) el ácido palmítico, que fue mayor en aquellas muestras del tratamiento testigo, con 28.61% con respecto a los otros tratamientos, cuyo promedio fue de 24.7%, similar a lo reportado por Dalle y Cossu (2009) y Vasta *et al.* (2009), quienes encontraron valores de 25.6 y 25.7 en concentraciones de 1 y 3% de taninos, respectivamente. Para el caso del ácido palmitoleico, los valores fueron significativamente más altos ( $P < 0.05$ ) en aquellas muestras de carne de animales alimentados con la diferentes dietas con antioxidantes, comparadas con las testigo, lo cual concuerda con lo reportado en la literatura,

cuyos valores oscilan entre 1.1 y 2.7% para animales con dietas en las que se les incluyó taninos (Vasta *et al.*, 2010; Dalle y Cossu, 2009). En el caso del ácido oleico, se encontraron diferencias muy marcadas entre tratamientos ( $P < 0.05$ ), con valores inferiores (39.53%) en las muestras testigo, en comparación con los otros tratamientos con antioxidantes, que promediaron 43.61%, similar a lo reportado por Scollan *et al.* (2003) y Daley *et al.* (2010). Similar comportamiento presentó el ácido linoleico, siendo mayor ( $P < 0.05$ ) en aquellas muestras con vitamina E (2.85%), en tanto que las muestras con 1.5 y 2.5% de taninos, las medias fueron 1.75 y 2.78% respectivamente, comparado con las testigo (1.84%).

Se ha sugerido que suplementar con taninos en la dieta podría ser una estrategia útil para incrementar el ácido en rumen y el contenido de ácidos grasos poli-insaturados, así como reducir el contenido de ácidos grasos saturados en la carne de rumiantes (Priolo *et al.*, 2000; Vasta *et al.*, 2012a,b). Considerando que los taninos inhiben la actividad ruminal, es probable que depriman también la bio-hidrogenación ruminal, resultando en mayor acumulación de C18:2 n<sub>6</sub> y ácidos grasos polinsaturados en la carne cuando son alimentados con dietas que contienen taninos (Priolo *et al.*, 2000; Vasta *et al.*, 2012a).



**Cuadro 17. Perfil de ácidos grasos (%) de carne ovinos suplementados con diferentes fuentes y concentraciones de taninos en dieta.**

*Experimento 1*

Ácido Graso	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Cocohuite	Guasimo	Quebracho		
Mirístico	2.37	2.43	2.45	2.46	0.052	0.711
Palmitico	24.91	24.89	25.03	24.89	0.279	0.333
Estearico	17.48	18.53	18.40	17.78	0.033	0.121
Heptadecanoico	1.58	1.12	1.03	1.11	0.218	0.221
Palmitoleico	2.45	2.85	2.56	2.48	0.152	0.211
Oleico	30.13 <sup>b</sup>	43.89 <sup>a</sup>	44.61 <sup>a</sup>	44.01 <sup>a</sup>	0.621	0.012
Linoleico	2.61 <sup>c</sup>	5.89 <sup>a</sup>	5.93 <sup>a</sup>	4.78 <sup>b</sup>	0.321	0.011

*Experimento 2*

Ácido Graso	Tratamiento				EEM	P valor
	Testigo	Vit. E 1000 UI	1.5% Taninos	2.5% Taninos		
Mirístico	2.29	2.08	2.45	2.47	0.032	0.521
Palmitico	28.61 <sup>a</sup>	25.62 <sup>b</sup>	23.80 <sup>b</sup>	24.81 <sup>b</sup>	0.228	0.031
Estearico	16.02	16.58 <sup>b</sup>	17.03	16.35	0.133	0.127
Heptadecanoico	1.19	1.001	1.11	1.001	0.278	0.421
Palmitoleico	2.78 <sup>b</sup>	3.58 <sup>a</sup>	2.56 <sup>b</sup>	2.65 <sup>b</sup>	0.652	0.024
Oleico	39.53 <sup>b</sup>	46.31 <sup>a</sup>	38.71 <sup>b</sup>	45.83 <sup>a</sup>	0.541	0.042
Linoleico	1.84 <sup>b</sup>	2.85 <sup>a</sup>	1.75 <sup>b</sup>	2.78 <sup>a</sup>	0.441	0.013

EEM, Error estándar de la media; Literales diferentes entre columnas, son diferentes estadísticamente (P<0.05).

#### 4.6. Conclusiones

Los resultados presentados demuestran que ofrecer taninos como antioxidantes naturales vía inclusión de harina de heno de Cocuite y Guasimo, en la dieta de borregos Pelibuey, incrementan significativamente la vida de anaquel de la carne, a través de la reducción de la oxidación lipídica y proteica. Además, contribuyen al incremento de los principales ácidos grasos insaturados de la carne. El efecto antioxidante de los taninos en las concentraciones usadas en este estudio es similar al efecto antioxidante de la vitamina E. Sería interesante evaluar mayores concentraciones de taninos incluidos en la dieta, usando otros ingredientes locales. En la práctica, estos resultados podrían extrapolarse, pero no sin antes hacer un balance en los costos de producción, ya que en este caso el heno de Cocuite y Guasimo fueron trasladados del trópico a la zona templada, que en términos de costos podría resultar no viable.

#### 4.7. Literatura citada

- A.O.A.C. 2005. Official Methods of Analysis of the association of Official Agricultural Chemists. Published by the Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C.
- Acevedo S., M. 2004. Evaluación de los atributos principales de la calidad de la carne de res de origen local e importada según se ofrece al consumidor. Tesis de Maestría. Universidad de Puerto Rico, Puerto Rico. Pp. 25-50.
- Aouadi, D., Luciano, G., Vasta, V., Narsi, S., Brogna, D., Abidi, S., Priolo, A., and Salem, H.B. 2014. The antioxidant status and oxidative stability muscle from lambs receiving oral administration of *Artemisa herba alba* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Met Science*, 97:237:243.
- Armenteros, M., Heinunem M., Ollilainen V., Toldrá F., and Estévez, M. 2009. Analysis of protein carbonyls in meat products by using the DNPH- method, fluorescence spectroscopy and liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry (LC-ESI-MS). *Meat Science*, 83:104-112.
- Armenteros, M., Ventanas S., Morcuende, D., Estévez, M., y Ventanas, J. 2012. Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos. *Eurocarne*, 202: 63-73.
- Avello, M y Suwalsky, M. 2011. Radicales Libres, Estrés Oxidativo y Defensa Antioxidante Celular. Departamento de Polímeros, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción.
- Ayala, M.M. 2013. Inclusión de Taninos en la Dieta de Ovinos en Finalización: respuesta en Calidad de la Carne. Tesis de Maestría. Colegio de postgraduados Campus Montecillos, Texcoco, Edo de México. 55p

- Cullere, M., Hoffman, L., and Dalle Zotte, A. 2013. First evaluation of unfermented rooibos (*Aspalathus linearis*) in preventing lipid oxidation in meat products. *Meat Science*, 95:72-77.
- Daley, C. A., Abbott, A., Doyle, P. S., Nader, G. A., and Larson, S. 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal*, 9: 10.
- Dalle, A., and Cossu, M. 2009. Dietary inclusion of tannin extract from red quebracho trees (*Schinopsis spp.*) in the rabbit meat production. *Journal Animal Science*, 8:784-786.
- De la fuente, J., Díaz, M.T., Álvarez, I., Laura, S., Pérez, C., y Ceñeque, V. 2005. Comportamiento y bienestar animal en: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes Ceñeque, V., C.
- Descalzo, A.M., and Sancho, A. 2008. A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quaoiñlity of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79: 423 -426.
- Faustman, C., Cassens, R.G., Shaefer, D.M., Buege, D.R., Williams, S.N., and Sheller K.K. 1998. Improvement of pigment and lipid stability in Holqstein steer beef by dietary suplementtation with vitamin E. *Journal Food Science*, 54: 858-864.
- Filgueras, R., Gatellier, P., Aubry, L., Thomas, A., Bauchart, D., and Durand, D. 2010. Colour, lipid and protein stability of *Rhea Americana* meat during air- and vacuum-packaged storage: Influence of muscle on oxidative processes. *Meat Science*, 86:665-673.
- Garrido, M.D., Bañón. S., y Álvarez, D. 2005. Medida del pH en: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en rumiantes” Ceñeque, V., Sañudo, C., 176p.

- Gravador, R., Jongberg, S., Andersen, M., and Luciano, G. 2014. Dietary citrus pulp improves protein stability in lamb meat stored under aerobic conditions. *Meat Science*, 97:231-236.
- Guerrero, I.L., Ponce A.E., y Pérez C.L. 2002. Curso práctico de tecnología de carnes y pescado. Manual de prácticas de laboratorio. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F. 171 p.
- Hargreaves, A., Barrales, L., Larrain, R., y Zamorano, L. 2004. Factores que influyen en el pH último e incidencia de corte oscuro en canales de bovinos. *Journal Ciencia e Investigación Agraria*, 31: 145-229.
- Hernández I.H. 2013. Efecto de la suplementación de dietas con vitamina D3 y 25 hidroxicolecalciferol en la estabilidad oxidante de la carne de cerdo. Tesis de Especialidad, Facultad de Química de Alimentos Universidad Autónoma de México, México D.F. 118p.
- Humada, M.J., Saduño, C., and Serrano, E. 2013. Chemical composition, vitamin E content, lipid oxidation, color and cooking losses in meat from Tudaca Bulls finished on semi-extensive or intensive system and slaughtered at 12 or 14 months. *Meat Science*, 96:908-215.
- Inseira, L., Priolo, A., Biondi, L., Lanza, M., Bognanno, M., Gravador, R., and Luciano, G. 2013. Dietary citrus pulp reduces lipid oxidation in lamb meat. *Meat Science*, 96: 1489-1493.
- Jan, P., Yanishlieva, N., y Gordon, M. 1995. Antioxidantes en los alimentos aplicaciones prácticas. Editorial ACRIBIA S.A. Zaragoza España. Pp: 23-145.
- Liu, Q., Lanari, M.C., and Schaefer D.M. 1995. A review of vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *Journal of Animal Science*, 73:3131-3140.

- Liu, Q., Scheller, K.K., Arp, S.C., Shaefer, D.M., and Frigg, M. 1996. Color coordinates for assessment of dietary vitamin E effects on beef color stability. *Journal of Animal Science*, 74: 106-116.
- Liu, W.L., Gai, F.B., Gasco B.L., Brugiapaglia, B.A., Kai ,J.C., Guo, C., Ming, T.J., and Zoccarato, B.I. 2009. Effects of chestnut tannins on carcass characteristics, meat quality, lipid oxidation and fatty acid composition of rabbits. *Meat Science*, 83:678-683.
- López, J., Tejada, I., Vazquez, C., De Dios, G. and Shimada, A., 2004. Condensed tannins in humid tropical fodder crops and their In vitro biological activity part 1. *Journal Science Food Agriculture*, 84: 291-294.
- Luciano, G., Biondi, L., Pagano, R. I., Scerra, M., Vasta, V., López, A., Valenti, B., Lanza, M., Priolo, A., and Avondo, M. 2012. The restriction of grazing duration does not compromise lam meat color and oxidative stability. *Meat. Science*, 92: 30-35.
- Luciano, G., Biondi, L., Scerra, M, Scerra, A., Mele, M., Lanza, M., and Priolo, A. 2013. The effect the change from a herbage- to a concéntrate- based diet on the oxidative stability of raw and lamb meat. *Meat- Science*, 95: 212-218.
- Lund, M., Lametsch, R., Hviid, M., Jensen, N., and Skibsted, L. 2007. High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine *Longissimus dorsi* during chikstorage. *Meat Science*, 77:295-303.
- Min, B.R., Barry, T.N., Attwood G.T., and McNabb W.C. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review; *Animal Feed Science and Technology*, 106:3-19.

- Narsi, S., Luciano, G., Vasata, V., Aouadi, D; Priolo, A., Makkar, H., and Ben Salem, H. 2012. Effect of *Quillaja saponaria* dietary administration on color, oxidative stability and volatile profile of muscle *longissimus dorsi* of Barbarine lam. Meat Science, 92:582-586.p
- Nissen, L., Derek, B., Bertelsen, G., and Skibsted, L. 2004. The antioxidative activity of plant extracts in cooked pork patties as evaluated by descriptive sensory profiling and chemical analysis. Meat Science, 68:485-495.
- NRC, 2007. Nutrients Requirements of small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids and New World Camelids. The National Research Council. The National Academies Press. Washington D.C.
- Padilla, F.C., Rincón, A.M., and Bou-Rachel, L. 2008. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. Archivos latinoamericanos de nutrición,58: 303-308.
- Pennisi, S., Ranalli, N., Zaritzky, N., Andrés, S., and Califano, A. 2010. Effect of type of emulsifiers and antioxidants on oxidative stability, colour and fatty acid profile of low-fat beef burgers enriched whit unsaturated fatty acids and phytosterols. Meat Science, 86:364-370.
- Petron, M., Raes, K., Claes, E., Lourenco, M., Fremaut, D., and De Smet, S. 2006. Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. Meat Science, 75:737-745.
- Price, J. y Schweigert, B. 1994. Ciencia de la carne y los productos cárnicos. 2da Edición. Editorial ACRIBIA S.A., Zaragoza España. Pp. 58-109, 175-188.

- Priolo, A., Waghor, G.C., Lanza, M., Biondi, L. and Pennisi. 2000. Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: effects on lamb growth performance and meat quality. *Journal Animal Science*, 78:810-816.
- Priolo, A., and Vasta, V. 2007. Effects of tannin-containing diets on small ruminant meat quality. *Journal Animal Science*, 6: 527-530.
- Provenza, F.D., Villalba, J.J., Haskell, J., MacAdam, J.W., Griggs, T.C., and Wiedmeier, R.D. 2007. The Value to Herbivores of Plant Physical and Chemical Diversity in Time and Space. *Crop Science*, 47: 382-398.
- Quintanar, E.M.G., y Calderón, S.J.V. 2009. La Capacidad Antioxidante Total. Bases y Aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*, 28:98-101.
- Raharjo, S., Sofos, J.N., and Schmidt, G.R. 1992. Improvet Speed, Specificity and Limit of Determination of an Aqueous Acid Extraction Thiobarbituric Acid C18 Method for measuring Lipid and myoglobin. *Meat Science*, 43:111-112.
- Romero, M.A., Doval, M.M., Sturla, A.M., and Judis, A. 2003. Propiedades antioxidantes de compuestos polifenólicos presentes en extractos hridroalcohólicos de soja fermentada. *Comunicaciones científicas y tecnológicas, Universidad Nacional del Nordeste, Argentina. Resumen: E-054.*
- SAS/STAT, 2010. Statistical Analysis System for windows. Version 9.3. SAS Institute Inc., Campus Drive, Cary, North Carolina 27513. Smith, A.H., Zoetendal, E., Mackie, R.I., 2005.
- Scollan, N.D., Enser, M., Gulati, S.K., Richardson, I., and Wood, JD. 2003. Effects of including a ruminally protected lipid supplement in the diet on the fatty acid composition of beef muscle. *Br. Journal Nutrition*, 90:709-716.



- Solís, R. 2005. Manual de prácticas de tecnología de carnes. Departamento académico de ciencia y tecnología de alimentos. Facultad de ingeniería de industrias alimentarias. Universidad Nacional del centro de Perú.75p
- Terevinto, A., Ramos, A., Castroma, G., Cabrera, M., and Saadoun. 2009. Oxidative status, in vitro iron- induced lipid oxidation and superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in rhea meat. *Meat Science*, 84:706-710.
- Tieko, N.R., Guaraldo, G.L.A., Acevedo, P.S.M., and Beserra, F.J. 2002. Oxidative stability of fermented goat met sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science*, 63:43-49.
- Vásquez, A., Cala, M., Miranda, I., Tanfurt, G., Martínez, J., and Stashenko, E. 2007. Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia aractocensis*, *Salvia sochensis*, *Bidens reptons* y *Montanoa ovalifolia*. *Scientia et Technica*, 33:205-207.
- Vasta, V., Mele, M., Serra, A., Luciano, G., and Lanza, M. 2009. Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concetrates or herbage with or without tannins. *Journal of Animal Science*, 87:2674-2684.
- Vasta, V., Yáñez-Ruiz, D.R., Mele, M., Serra, A., Luciano, G., Lanza, M. and Priolo, A. 2010. Bacterial and protozoal communities and fatty acid profile in the rumen of sheep fed a diet containing added tannins. *Applied and environmental microbiology*, 76:2549-2555.
- Vasta, V., Pagano, R., Luciano, G. Scerra, M., Caparra, P., Foti, F. 2012a. Effect of morning vs. afternoon grazing on intramuscular fatty acid composition in lamb. *Meat Science*, 90:93-98.

- Vasta, V., Ventura, V., Luciano, G., Andronico, V., Pagano, R., and Scerra, M. 2012b. The volatile compounds in lamb fat are affected by time of grazing. *Meat Science*, 90:451-456.
- Velázquez, M.M. 2013. Taninos de forraje de árboles y su efecto en la producción y calidad de la carne de bovinos y ovinos. Tesis Doctoral. Colegio de postgraduados Campus Montecillos, Texcoco, Edo de México. 98p
- Xiong, Y. L.2000. Protein oxidation and implications for muscle foods quality. In EA Decker and López Bote (editores), *antioxidants in muscle foods*. New York; Willey. Pp. 71-111.

## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

Los resultados muestras de carne utilizadas y analizadas para este estudio, provenientes de tres experimentos en diferente tiempo y espacio, utilizando toretes y borregos en crecimiento, cuyos resultados son aquí reportados, expresan el gran potencial que tiene las especies arbóreas forrajeras, no solo por su alto valor nutricional, pero por su alto contenido de taninos, factor que nos ocupa en el presente estudio. Ofrecer diferentes fuentes y niveles de taninos como antioxidantes naturales, provenientes de heno de Cocuite y Guasimo, y extracto de Quebracho, en la alimentación de rumiantes, se observó reducción de la oxidación lipídica y proteica, alargando la vida de anaquel de la carne. Es importante señalar que los resultados positivos en las características generales de la estabilidad oxidativa y perfil de ácidos grasos de la carne, sugiere que el uso de cualquier fuente de taninos mejora la calidad y vida de anaquel de la carne con respecto a las dietas convencionales. Adicionalmente, incluir taninos en la dieta de los animales, podría mejorar el perfil de ácidos grasos, según lo reportado en el presente estudio, donde se encontró que los taninos al igual que la vitamina E, causaron mayor concentración de ácido oleico y linoleico en la carne, aspecto importante a considerar como valor agregado de la carne.

Finalmente, es de particular importancia tomar en consideración que la inclusión de taninos en la dieta animal, podría ofrecer beneficios económicos al productor, toda vez que, de acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, son alternativa al uso de la vitamina E y selenio, siempre y cuando no rebase el 5.0% de la dieta. Sin embargo, es pertinente mencionar que es importante tomar precauciones en este contexto, ya que para los estudios de comportamiento animal fueron realizados en la zona templada del país, y el heno de Guasimo y Cocuite fueron cosechados en la zona tropical, por lo que habrá que considerar costos de secado y traslado de dicho material.