



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GANADERÍA

**USO DE ANTIOXIDANTES NATURALES PARA MANTENER LA
ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE POLLO**

FIDEL AVILA RAMOS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS


MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

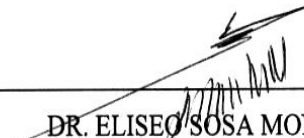
2011

La presente tesis titulada: “Uso de antioxidantes naturales para mantener la estabilidad oxidativa de la carne de pollo”, realizada por el alumno: “Fidel Avila Ramos”, bajo la dirección del Consejo Particular indicado ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

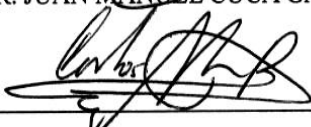
DOCTOR EN CIENCIAS
GANADERÍA
CONSEJO PARTICULAR


CONSEJERO : 
DR. ARTURO PRÓ MARTÍNEZ

DIRECTOR: 
DR. CARLOS NARCISO GAYTÁN

ASESOR: 
DR. ELISEO SOSA MONTES

ASESOR: 
DR. JUAN MANUEL CÚCA GARCÍA

ASESOR: 
DR. CARLOS MIGUEL BECERRIL PÉREZ

ASESOR: 
DR. JOSÉ LUIS FIGUEROA VELASCO

Montecillo, Texcoco, México, 15 de noviembre de 2011

USO DE ANTIOXIDANTES NATURALES PARA MANTENER LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE LA CARNE DE POLLO

Fidel Avila Ramos, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2011

La oxidación de los ácidos grasos afecta la calidad de la carne, pero los antioxidantes reducen la oxidación, por lo que el tipo de antioxidante, la concentración y el método de aplicación pueden influir en la estabilidad oxidativa de la carne. Se realizaron tres experimentos, dos para evaluar la estabilidad oxidativa de carne cocida de pollo y uno para determinar los antioxidantes en la carne. En el experimento uno, se alimentaron pollos de engorda durante 42 días, con una dieta adicionada con Vitamina E (10 y 100 mg) y aceite de orégano (100 mg) kg^{-1} de alimento, incluyendo aceite de soya crudo (ASC) o aceite de soya acidulado (ASA). Se evaluó el comportamiento productivo de las aves, perfil de ácidos grasos y estabilidad oxidativa de la carne. En el experimento dos, se comparó el efecto de antioxidantes suplementados en la dieta (Vitamina E y aceite de orégano) y antioxidantes adicionados en carne (Miel de abeja 3% y BHT 0.02%). En el experimento tres, se desarrolló la técnica de cuantificación de timol y carvacrol en carne de pechuga de pollo. En el experimento uno, no se encontraron diferencias en las variables productivas de las aves ni en el perfil de ácidos grasos, pero la carne de aves alimentadas con ASA presentó altos valores de malondialdehído, el cual a mayor concentración, indica menor estabilidad oxidativa. En el experimento dos, la vitamina E (100 mg kg^{-1} de alimento) mantuvo la estabilidad oxidativa más tiempo que el aceite de orégano. La miel de abeja tuvo un efecto similar en la estabilidad oxidativa de la carne como el BHT. En el experimento tres, timol y carvacrol aumentaron en carne de aves alimentadas con aceite de orégano, respecto a la dieta estándar. En conclusión, el tipo de aceite, antioxidante y su nivel de inclusión afecta la estabilidad oxidativa de la carne, mientras que los antioxidantes suplementados en la dieta tienen un efecto similar a los agregados directamente a la carne. Finalmente, hay mayor cantidad de timol y carvacrol en carne de aves que recibieron aceite de orégano en la dieta.

Palabras clave: aceite de orégano, miel, vitamina E.

USE OF NATURAL ANTIOXIDANTS TO MAINTAIN LIPID OXIDATION STABILITY OF CHICKEN MEAT

Fidel Avila Ramos, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2011

The oxidation of fatty acids affects the quality of the meat, but the antioxidants increased lipid oxidation stability, but the type of antioxidant, concentration and application method can affect the preservation of the of meat. Three experiments were conducted, two to assess the oxidation stability of cooked chicken meat and one to determine antioxidants in meat. In the first experiment, broilers were fed for 42 days with a supplement with vitamin E (10 and 100 mg) and oregano oil (100 mg kg⁻¹ of feed), including crude soybean oil (CSB) or soybean oil soapstock (ASS). It was evaluated the productive performance of broilers, fatty acids profile and meat oxidation stability. In the second experiment, it was compared the effect of antioxidants in diet (Vitamin E and oregano oil) and antioxidants added in the meat (honey bee 3% and BHT 0.02%). In the third experiment, a technique was developed for the quantification of thymol and carvacrol in chicken breast meat. In the first experiment, there were not differences in productive performance of broilers and fatty acids profile, but the meat of birds fed ASS showed high malondialdehyde values. In the second experiment, the vitamin E (100 mg kg⁻¹ of feed) maintained the oxidative stability more than the oregano oil ($P \leq 0.05$). The honey had a similar effect on the oxidative stability of meat as BHT. In the third experiment, the amount of thymol and carvacrol was higher in meat from birds fed oregano oil. In conclusion, the type of oil, the type of antioxidant and its level of inclusion affect the oxidative stability of the meat, the antioxidants supplemented in diet have an effect similar to that of antioxidants added directly to meat. Finally, there is greater amount of thymol and carvacrol in poultry meat that received oregano oil in the diet.

Keywords: oregano oil, honey, vitamin E.

Dedico esta tesis a:

Todas las personas que pagan impuestos en nuestro país, quienes, a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Colegio de Postgraduados, han financiado parte de mi formación.

Las personas integrantes de mi Consejo Particular por el esfuerzo, la dedicación, el tiempo y el apoyo que me han brindado, sobre todo, por su paciencia.

Todas las personas, profesores, compañeros, amigos y familia, quienes de alguna manera me han acompañado hasta hoy.

Agradecimientos

A la Línea Prioritaria de Agregación de Valor (LP1-12) por los apoyos brindados para realizar esta investigación.

Al apoyo recibido en los laboratorios del Colegio de Postgraduados y Universidad Autónoma Chapingo.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN GENERAL	11
1. Planteamiento del problema.....	13
2. Objetivos	14
3. Hipótesis	15
4. Revisión de literatura	16
4.1. Producción de carne de pollo en México.....	16
4.2. Calidad de la carne de pollo	16
4.3. Ácidos grasos en la carne de pollo	17
4.4. Grasas y aceites utilizados en nutrición de aves.....	19
4.5. Oxidación de los ácidos grasos.....	20
4.6. Proceso oxidativo en carne de pollo	21
4.7. Factores que afectan la estabilidad de los ácidos grasos en la carne	22
4.7.1. Especie animal.....	22
4.7.2. Ácidos grasos en la carne de pollo	22
4.7.3. Antioxidantes en la carne de pollo	23
4.7.4. Procesado de la carne de pollo	24
4.7.5. Empacado de la carne de pollo.....	25
4.8. Antioxidantes.....	25
4.8.1. Mecanismo de acción	26
4.8.2. Antioxidantes sintéticos	27
4.8.3. Antioxidantes naturales	27
4.8.4. Vitamina E	27
4.8.5. Aceite de orégano.....	29
4.8.6. Miel de abeja	31
4.9. Prueba de 2-ácido tiobarbitúrico (TBA).....	32
5. Literatura citada	35

CAPÍTULO I. DIETARY OREGANO ESSENTIAL OIL AND VITAMIN E EFFECT ON THE LIPID OXIDATION STABILITY OF COOKED CHICKEN BREAST MEAT	50
1.1. Introduction	52
1.2. Materials and methods	53
1.3. Results and discussion	55
1.4. Conclusion	577
1.5. References	59
CAPITULO II. EFECTO DE ANTIOXIDANTES ADICIONADOS A LA DIETA Y SOBRE LA CARNE EN LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE CARNE DE POLLO COCIDA	69
1.1. Introducción	72
1.2. Materiales y métodos	73
1.3. Resultados y discusión	77
1.4. Conclusiones	80
1.5. Literatura citada	82
CAPITULO III. DETERMINACIÓN DE TIMOL Y CARVACROL EN CARNE DE POLLO.....	89
1.1. Introducción	91
1.2. Materiales y métodos	92
1.3. Resultados y discusión	94
1.4. Conclusiones	95
1.5. Literatura citada	96
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES	102
1. Conclusiones	102
2. Recomendaciones	103

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Contenido de ácidos grasos en la pechuga y muslo de pollo (mg g^{-1} de grasa).....	18
Cuadro 2. Antioxidantes del organismo.....	25
Cuadro 3. Antioxidantes adicionados a los alimentos.	26
Cuadro 4. Mecanismo de acción de los antioxidantes.	26
Table 5. Chemical composition (%) of crude soybean oil and acidulated soybean oil soapstock diets.	63
Table 6. Productive variables of broilers fed with CSB and ASS in three different antioxidant supplements.....	64
Table 7. Fatty acid composition (% of total fat) of broiler breast muscle receiving CSB and ASS in three different antioxidant supplements.....	65
Cuadro 8. Medias de cuadrados mínimos y contrastes ortogonales para malondialdehído (mg kg^{-1} de carne) determinado en carne refrigerada por 9 días.	86
Cuadro 9. Medias de cuadrados mínimos y contrastes ortogonales para malondialdehído (mg kg^{-1} de carne) determinado en carne congelada por 45 días.	87
Cuadro 10. Iones utilizados para la cuantificación del timol y el carvacrol en estándares y en la carne de pollo.....	99
Cuadro 11. Linealidad encontrada en los compuestos estudiados.....	99

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reacciones producidas por la oxidación de lípidos.....	21
Figura 2. A. Estructura del α -tocoferol B. Estructura de α -tocotrienol.	28
Figura 3. Ciclo de la vitamina E	29
Figura 4. Estructura del carvacrol y timol.	30
Figura 5. Malondialdehído (MDA), ácido tiobarbitúrico (TBA) y complejo malondialdehído- ácido tiobarbitúrico.....	33
Figura 6. Malonaldehyde values of cooked breast meat strips receiving CSB and ASS in three different antioxidant supplements.	66
Figura 7. Malonaldehyde values of cooked breast meat patties receiving CSB and ASS in three different antioxidant supplements.	67
Figura 8. Contenido de timol y carvacrol en <i>Pectoralis major</i> de pollos alimentados con aceite de soya crudo.....	100
Figura 9. Timol y carvacrol determinado en músculo <i>Pectoralis major</i> de pollos alimentados con aceite de soya acidulado.	101

INTRODUCCIÓN GENERAL

La producción de carne de pollo en México en el año 2010 fue de 2,822,413 t; ésta incrementó en 1,470,012 t (106%) en los últimos catorce años y el consumo per cápita presentó la misma tendencia: pasó de 15.8 a 26.8 kg, lo que representa un incremento de 69%, con una tasa media de crecimiento anual de 4.6%. En promedio, los mexicanos consumen 71 g de carne de pollo al día (UNA, 2011), ésta carne tiene poca grasa saturada y es rica en ácidos grasos insaturados; la carne fresca tiene 23% de proteína, minerales y vitaminas liposolubles e hidrosolubles (ONU, 2009).

Si la dieta de las aves contiene altos niveles de ácidos grasos insaturados, la carne de pollo, será alta en estos compuestos, los cuales pueden disminuir la presión arterial y mejorar el funcionamiento del sistema vascular (Nestel, 1990; Borek, 1994; Blankson *et al.*, 2000). Sus efectos antiarrítmicos y antitrombóticos mejoran la función endotelial del sistema vascular (Fleischhauer *et al.*, 1993; Mori *et al.*, 1997; Rosenberg, 2002), aumentan la respuesta inmunológica del organismo y disminuyen la formación de células cancerosas y neoplasias (Bagga *et al.*, 1997; Simopoulos, 2002; Janice *et al.*, 2007).

El organismo debe ingerir ácidos grasos todos los días; la cantidad requerida se desconoce. Pero en Canadá, el sistema de salud recomienda 1,500 mg de omega-3 y 9,000 mg de omega-6 (una relación 1:6) por día para una persona adulta (Schwalfenberg, 2006). Barroeta (2007) menciona que 100 g de muslo de carne de pollo enriquecido con ácidos grasos insaturados (AGI) puede aportar el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) necesarios para el organismo.

El pescado, las nueces y las semillas de linaza contienen ácidos grasos poli insaturados (AGPI) en mayores cantidades que la leche, el pollo o la carne roja. La carne de pollo tiene pequeñas cantidades de AGPI, pero su contenido puede aumentar si se adiciona al alimento del ave una fuente energética rica en AGPI (Cortinas *et al.*, 2005; Suksombat *et al.*, 2007), de esta forma la carne aumenta su valor nutritivo (López-Ferrer *et al.*, 1999; Sanz *et al.*, 1999). La pechuga de pollo puede tener 2.8 g, el muslo 13 g y la piel 70 g de ácidos grasos por 100 g de tejido (Lin *et al.*, 1989).

El consumo de AGPI incrementa la proporción de estos en las membranas celulares del organismo, incluyendo las fibras musculares de la carne. Esta modificación aumenta la

susceptibilidad de la carne a sufrir oxidación lipídica y el daño oxidativo es mayor en carne cocida y almacenada en refrigeración (Sárraga *et al.*, 2002; Pettersen *et al.*, 2004). Para disminuir el proceso oxidativo de las grasas, se adicionan antioxidantes a través del alimento de las aves, o son aplicados sobre la carne durante su procesamiento (Cherian *et al.*, 2002; Cortinas *et al.*, 2005; Lu *et al.*, 2007).

El uso de antioxidantes naturales es una alternativa para aumentar la vida de anaquel de los productos cárnicos (Karou *et al.*, 2005; Martos *et al.*, 2010; Frangos *et al.*, 2010). Éstos tienen efectos variables para disminuir la oxidación de la carne, son inocuos, sin embargo, son caros y pueden modificar el sabor de los alimentos, aunque el consumidor los acepta fácilmente. Su evaluación individual en carne es complicada, debido a la cantidad de compuestos químicos que pueden contener. Su origen, la especie vegetal empleada y el método aplicado para obtenerlos de las plantas, son factores que modifican el contenido de sus ingredientes activos (Dimitrios, 2006; Symeon *et al.*, 2009).

Los antecedentes mencionados indican la necesidad de estudiar dosis óptimas y vías de administración de antioxidantes para disminuir la oxidación de los AGI en la carne de pollo. Por consiguiente, el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de los antioxidantes naturales adicionados al alimento de las aves o agregados a la carne, para disminuir la oxidación de los ácidos grasos.

1. Planteamiento del problema

La industria avícola tiene como objetivo producir aves en el menor tiempo, al menor costo posible y sin afectar la calidad de la carne. El músculo *Pectoralis major*, comúnmente conocido como pechuga, es la pieza de mayor valor por su alto contenido de proteína y bajo de grasa. La producción intensiva de aves requiere ingredientes energéticos de alta calidad y bajo costo para satisfacer las necesidades nutrimentales de los pollos, los aceites crudos de oleaginosas son insumos indispensables para lograr tal objetivo.

El costo por concepto de aceite de soya crudo puede ser menor si se utiliza un subproducto como es el aceite de soya acidificado, el aceite de soya crudo es un ingrediente utilizado en la formulación de alimentos para pollo de engorda, pero su precio incrementó en años recientes, una alternativa es el uso de aceite de soya acidificado, que contiene mayor contenido de ácidos grasos libres, pero es de menor costo.

2. Objetivos

- 2.1.** Determinar el efecto del tipo de aceite y de antioxidante en la dieta, sobre la estabilidad oxidativa de carne de pollo precocida.
- 2.2.** Determinar el efecto del tipo de antioxidante suplementado y adicionado sobre la estabilidad de la carne de pollo precocida.
- 2.3.** Determinar la presencia de timol y carvacrol en carne de pollo para conocer si hay aumento de estos compuestos.

3. Hipótesis

- 3.1.** Cuando se usa aceite de soya crudo o acidulado, el aceite de orégano y la vitamina E de la dieta, disminuyen la oxidación de los lípidos en la carne de pollo precocida.

- 3.2.** Los antioxidantes suplementados a través del alimento de las aves mejoran la estabilidad oxidativa de carne precocida comparada con antioxidantes adicionados directamente a la carne de pollo.

- 3.3.** El timol y carvacrol adicionados a la dieta de las aves se acumulan en la carne.

4. Revisión de literatura

4.1. Producción de carne de pollo en México

La producción total de carne en el año 2010 fue de 5,783,608 t, incluyendo bovinos, aves, porcinos, caprinos y ovinos; de la cual el 49.3% es carne de pollo con 2,822, 413 t. En los últimos diez años, la producción avícola creció a una tasa media de crecimiento anual (TMCA) de 4.3%, su valor fue de \$ 77,731,265.00 millones de pesos, lo que representa 38.5% del producto interno bruto (PIB) pecuario nacional (UNA, 2009).

La avicultura es la principal rama transformadora de proteína vegetal a proteína animal. En 1994 se consumieron 8.7 millones de toneladas de alimento balanceado; en el año 2008, el consumo ascendió a 13.7 millones de toneladas. Los granos forrajeros constituyeron 63.1% (8,649,094 t) del alimento y las pastas de oleaginosas 22% (3,151,000 t), 14.8% fueron ingredientes menores. En el año 2008 la producción de carne utilizó 4,782,102 t de granos (UNA, 2009); 38% del sorgo, 9.5 millones de toneladas de maíz amarillo y 95% de la soya consumida se importaron en 2008 (Alonso y Acevedo, 2009).

El incremento de los precios en los insumos impacta directamente el costo de producción del pollo. En el año 2008, el alimento representó 67.2% de los costos con un índice de 2.1 kg de alimento para producir 1 kg pollo (UNA, 2009). Para contrarrestar los efectos negativos de los precios de los alimentos, se necesita producir 167.4 kg de pollo por m^{-2} año⁻¹ y manejar los eslabones de la cadena productiva hasta la llegada de los productos cárnicos al consumidor.

4.2. Calidad de la carne de pollo

En los últimos años, el consumidor ha modificado algunos de sus hábitos alimenticios. Actualmente, no sólo le preocupa alimentarse, si no al mismo tiempo busca alimentos que beneficien su salud (Schwalfenberg, 2006). Para lograr el objetivo elige carne con poca grasa saturada y prefiere carne con alto contenido de AGPI (Bagga *et al.*, 1997). En los Estados Unidos de América, la “American Heart Association” recomienda consumir carne, pero incluir en la dieta una relación de 30% de ácidos grasos insaturados y 10% de ácidos grasos saturados para disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

La carne de pollo tiene alto valor nutricional y poca grasa, 100 g de carne contiene: 74.7% de agua, 110 kcal, 23.0 g de proteína y 1.2 g de lípidos. De éstos últimos 0.33 g son ácidos grasos

saturados, 0.10 g son ácidos grasos monoinsaturados, 0.28 g de ácidos grasos poliinsaturados y 58 mg de colesterol (Gonzalo, 1997). En el Cuadro 1 se muestra el perfil de ácidos grasos de la carne de pollos alimentados con una dieta estándar. La pechuga contiene ligeramente menos ácidos grasos que el muslo, los ácidos grasos más abundantes son el oleico, el palmítico y linoléico.

El contenido de lípidos en la carne de pollo varía debido a la edad de las aves, el sexo y factores nutricionales, principalmente la fuente concentrada de energía adicionada a la dieta (Crespo y Steve-García, 2002; Cortinas *et al.*, 2005). La inclusión de altos niveles de grasa en la dieta de las aves disminuye la actividad lipogénica hepática, debido a que no es necesaria la síntesis de ácidos grasos y se inhiben las enzimas lipogénicas (Mourot y Hermier, 2001). Este proceso metabólico aumenta cuando la energía de la dieta proviene por carbohidratos (Tanaka *et al.*, 1983).

4.3. Ácidos grasos en la carne de pollo

Los ácidos grasos presentes en las fibras musculares tienen dos orígenes: el primero es el exógeno, debido a su inclusión en el alimento, el segundo es de origen endógeno, debido al metabolismo del ave. Cuando se administran cantidades bajas (<1%) de ácidos grasos a la dieta, la mayor parte de ácidos grasos es de origen endógeno debido a la síntesis del *novo* a partir de hidratos de carbono (Crespo y Esteve-García, 2002). Cuando las aves se alimentan con grasas, se incrementa la cantidad de los ácidos mirístico (14:0), palmítico (16:0) y esteárico (18:0) en la carne. Pero cuando se alimentan con aceites (oliva, linaza o girasol al 10%) los perfiles de ácidos grasos se modifican, predominando el aceite oleico (Crespo y Esteve-García, 2002).

Crespo y Esteve-García (2002) adicionaron manteca, aceite de oliva, girasol y linaza a la dieta y no encontraron diferencias en la cantidad de ácidos grasos saturados en carne de pollo, pero el contenido de ácidos grasos insaturados fue superior al adicionar aceite de oliva, girasol y linaza ($P \leq 0.05$), y reportaron mayor cantidad de ácidos grasos saturados en muslo y pechuga por la inclusión de grasa saturada en la dieta, principalmente ácido mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0), comparados con carne de pollos alimentados con aceite de oliva, girasol o linaza. La carne de las aves alimentadas con aceite de girasol mostró altos valores de ácido linoléico (C18:2).

Cuadro 1. Contenido de ácidos grasos en la pechuga y muslo de pollo (mg g^{-1} de grasa).

Ácidos grasos	Pechuga	Muslo
C16:0 (Palmítico)	23.8	22.6
C16:1 (Palmitoleico)	4.5	6.3
C18:0 (Estearico)	7.5	7.6
C18:1 (Oleico)	29.1	32.0
C18:2 ω 6 (Linoléico)	17.8	18.3
C18:3 ω 3 (Linolénico)	0.5	0.7
C20:1 (Gondoico)	0.5	0.5
C22:1 (Erúcido)	0.4	0.6
C20:4 ω 6 (Araquidónico)	5.0	3.7
C20:5 ω 3 (Eicosapentanoico)	0.7	0.6
C22:5 ω 3 (Docosapentanoico)	0.9	0.5
C22:6 ω w3 (Docosahexanoico)	1.8	1.0
AGS ¹	31.3	30.2
AGMI ²	34.5	39.4
AGPI ³	26.7	24.8
AGPI:AGS ⁴	0.85	0.82

Fuente: Cortinas *et al.*, 2005.

¹AGS: Ácidos grasos saturados.

²AGMI: Ácidos grasos mono insaturados.

³AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados.

⁴ AGPI:AGS: Ácidos grasos poli insaturados : Ácidos grasos saturados.

López-Ferrer *et al.* (1999) evaluaron la inclusión de aceite de pescado (0, 2, y 4%) a la dieta de los pollos, combinado con ácidos grasos saturados y encontraron que se incrementó la deposición de grasas insaturadas en la carne de los pollos evaluados, principalmente las de cadena larga; ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5 3,6,9,12,15), docosaheptaenoico (DHA, C22:6 3,6,9,12,15,18) y docosapentaenoico (DPA, C22:5 4,7,10,13,16). Al realizar la evaluación con los consumidores, los panelistas no encontraron diferencia en el sabor de la carne al

incrementar el porcentaje de aceite de pescado suministrado. Los resultados indicaron que es posible enriquecer con ácidos grasos insaturados la carne de pollo sin modificar su sabor.

Rymer *et al.* (2010) propusieron la adición de aceite de pescado en matriz de gel para aumentar la deposición de ácidos grasos insaturados en carne de pollo. La adición de aceite o su matriz en gel favorecen el proceso sin diferencia alguna. Por lo tanto, utilizar ingredientes apropiados favorece la deposición de AGPI en la carne (Cortinas *et al.*, 2005; Suksombat *et al.*, 2007).

Por ejemplo, el aceite de soya crudo en la dieta de las aves incrementa la deposición de los ácidos grasos insaturados (linoléico C18:2 y linolénico C18:3) en la carne (Narciso-Gaytan *et al.*, 2010a; Narciso-Gaytan *et al.*, 2010b). Los niveles de ácido linoléico conjugado pueden incrementar en la carne de pechuga y en el muslo al adicionarlo a la dieta sólo o combinado, respecto a las aves que reciben únicamente aceite de pescado (Shin *et al.*, 2011).

La nutrición de las aves es el factor principal que afecta la acumulación de ácidos grasos insaturados en los tejidos (Cortinas *et al.*, 2005; Narciso-Gaytan *et al.*, 2010a). Esto significa que los ingredientes utilizados para elaborar las dietas deben elegirse considerando el efecto que pueden tener en el producto final, es necesario aplicar métodos que mantengan la calidad, el valor nutricional y prolonguen vida de anaquel de la carne (Narciso-Gaytan *et al.*, 2010a; Narciso-Gaytan *et al.*, 2010b; Shin *et al.*, 2011).

4.4. Grasas y aceites utilizados en nutrición de aves

Debido a su elevado requerimiento deben adicionarse fuentes concentradas de energía a los alimentos de las aves (Leeson y Summers, 2005). Las grasas, además de proporcionar energía a la dieta y mejorar la absorción de vitaminas liposolubles y otros nutrientes, son lubricantes de maquinaria durante la elaboración del “pellet”, disminuyen el polvo e incrementan la palatabilidad del alimento (Baião y Lara, 2005). Se usan aceites de algodón, canola, girasol, linaza, palma, soya y acidulado, así como grasa de pollos, bovinos, cerdos, pescados o sus mezclas que varían en calidad, composición y precio (Sanz *et al.*, 1999; López-Ferrer *et al.*, 1999; Leeson y Summer, 2001).

El aceite de soya crudo es el de mayor uso debido a que se produce para consumo humano y tiene de 8,337 a 9,510 kcal kg⁻¹ de energía bruta (Sibbald y Kramer, 1977; Narciso, 2002; Pérez, 2011). Se obtiene del frijol soya y por su composición química, es una fuente de energía

adecuada para las aves, es digestible y contiene fosfolípidos, colina y ácido linoléico (Mateos *et al.*, 1996; Vieira y Lima, 2005).

El aceite acidulado de soya es un subproducto del refinamiento del aceite crudo. Por su origen, es una fuente concentrada de energía, económica, pero variable 8,293-8,861 kcal kg⁻¹ energía bruta (Sibbald y Kramer, 1977; Narciso, 2002; Pérez, 2011). Al obtenerse se producen ácidos grasos libres debido a la adición de NaOH, se separan como una pasta por centrifugación y decantación, y se neutraliza con ácido sulfúrico, originándose el aceite acidulado. Los aceites acidulados son parecidos a los aceites crudos de los que provienen, pero tienen menor contenido de triglicéridos y gran cantidad de ácidos grasos libres (> 90%), ésta es la principal diferencia entre ambos aceites (Mateos *et al.*, 1996). Lo anterior, significa menor valor energético de los acidulados, comparados con los aceites originales, especialmente para aves jóvenes, por no producir suficientes sales biliares para favorecer la formación de micelas durante la digestión (Wiseman y Salvador, 1991).

4.5. Oxidación de los ácidos grasos

La oxidación de los ácidos grasos (Figura 1) consiste en una serie de reacciones químicas mediadas por radicales libres en donde intervienen especies reactivas de oxígeno (Halliwell *et al.*, 1995). La oxidación de los ácidos grasos se inicia en la fracción intracelular de los fosfolípidos de la membrana (Gray y Monahan, 1992) y tiene tres etapas: iniciación, propagación y finalización.

En la primera, el radical libre (**R•**) remueve al átomo de hidrógeno alílico, es decir del metileno más cercano a la doble ligadura de una molécula lipídica (**LH**), proceso relativamente fácil debido a la menor fuerza de enlace causada por los dobles enlaces contenidos en las AGPI que se encuentran formando las membranas celulares (Kanner y Rosenthal, 1992; Halliwell y Chirico, 1993); esto provoca una reorganización electrónica del ácido graso que dará lugar a la formación de un radical lipídico (**L•**).

En la segunda etapa se adiciona una molécula de oxígeno al radical **L•** para formar un radical peróxilo (**LOO•**) que reacciona con otro lípido y genera un hidroperóxido (**LOOH**) y un radical lipídico (**L•**) (Buettner, 1993). Finalmente, el proceso concluye cuando los radicales reaccionan entre sí y forman compuestos no radicales (**CNR**), como son cetonas, aldehídos, alcoholes y ésteres, o el sustrato oxidable se agota.

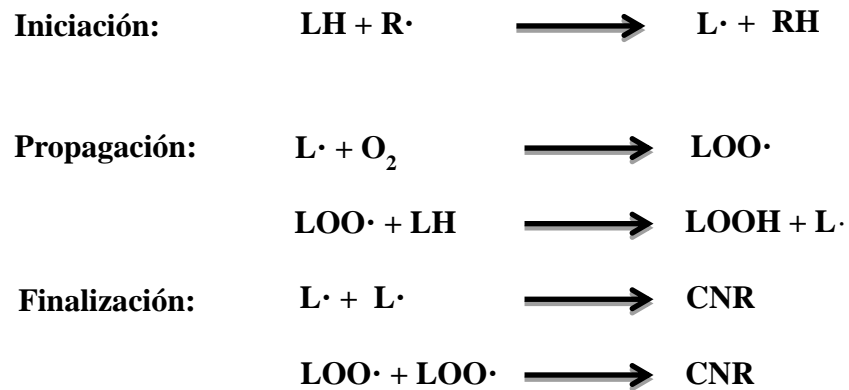


Figura 1. Reacciones producidas por la oxidación de lípidos. Fuente: Buettner, 1993.

En los organismos vivos, la oxidación lipídica se inhibe por la acción de las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa; estas remueven los hidroperóxidos formados y evitan el daño celular a las membranas, principalmente en la mitocondria (Thurnham, 1990; Sárraga *et al.*, 2002).

4.6. Proceso oxidativo en carne de pollo

La oxidación de los ácidos grasos en la carne inicia al momento que cesa la circulación de la sangre. Los fosfolípidos presentes en las membranas celulares son los primeros en sufrir daño (Gray y Pearson, 1987) y a partir de este momento, cualquier alteración física en la carne facilita la interacción de oxidantes con ácidos grasos y acelera el proceso oxidativo (Asghar *et al.*, 1988).

El proceso oxidativo depende de la cantidad de mitocondrias en los tejidos. Por ejemplo, las fibras musculares del muslo tienen más mitocondrias, por tanto, pueden oxidarse fácilmente, comparadas con las de la pechuga (Gray y Pearson, 1987). Por otro lado, el hierro libre facilita la remoción de un protón de los ácidos grasos insaturado (iniciación) catalizando la formación de hidroperóxidos en la propagación (Gutteride *et al.*, 1986; Kanner *et al.*, 1992). Moléculas ricas en hierro, como la hemoglobina o mioglobina, pueden catalizar directamente la oxidación (Decker *et al.*, 1993; Monahan *et al.*, 1993) o el propio hierro podría ser transportado a través de la membrana celular a sitios donde pueden ser altamente reactivo (Kanner *et al.*, 1986), la cantidad de agua y proteína contenida en la carne podría acelerar la reacción (Ang, 1988).

4.7. Factores que afectan la estabilidad de los ácidos grasos en la carne

4.7.1. Especie animal

Wilson *et al.* (1976) mostraron que la susceptibilidad de la carne a la oxidación de lípidos es función de la especie; no todos los animales acumulan de la misma forma los AGPI en sus tejidos. Por ejemplo, la carne de guajolote es más sensible a la oxidación, seguida de la de pollo, cerdo y borrego. Esto puede explicarse porque la carne de guajolote tiene alto contenido de AGPI (Mercier *et al.*, 1998), así como hierro libre que puede funcionar como oxidante (Kanner *et al.*, 1988). Además, el guajolote no puede retener la vitamina E en sus membranas celulares, como lo hacen los pollos o cerdos (Marusich *et al.*, 1975; Sklan *et al.*, 1983).

En la carne de pollo se acumula la vitamina E, conforme aumenta su cantidad en el alimento (Cortinas *et al.*, 2005). Wen *et al.* (1997a) adicionaron 30, 200 y 1000 mg de vitamina E kg⁻¹ de alimento para cerdo, en las membranas de las mitocondrias aumentaron los niveles. Por otro lado, Cortinas *et al.* (2005) mencionan que la carne cruda es menos sensible a la oxidación de los lípidos, la cual disminuye con la cantidad de vitamina E en la dieta. Debido a que las membranas de la carne expuesta pueden saturarse de esta vitamina, la mayor cantidad que se puede agregar es de 200 mg kg⁻¹ de alimento. Monahan *et al.* (1990) mostraron que al complementar la dieta de las aves con 200 mg de vitamina E kg⁻¹ de alimento, la carne cruda o cocida permaneció estable por 8 días en refrigeración a 4 °C.

4.7.2. Ácidos grasos en la carne de pollo

El perfil lipídico de la carne de pollo puede modificarse por las grasas adicionadas a la dieta. Al incrementar la cantidad de AGPI en las membranas celulares, la estabilidad oxidativa de la carne disminuye (Crespo y Esteve-García, 2002; Cortinas *et al.*, 2005), debido a que aumenta el número de dobles enlaces (Kanner *et al.*, 1987). Los fosfolípidos son muy susceptibles a la oxidación (Gray y Pearson, 1987); la proteína, el agua, el hierro y la lipólisis en el músculo son factores que incrementan el proceso oxidativo de los tejidos (Igene *et al.*, 1985; Wen *et al.*, 1997b; Ang, 1988).

La fuente de energía de la dieta tiene efecto en la oxidación de la carne. Narciso-Gaytán *et al.* (2010 a y b) muestran mayor oxidación en carne de aves alimentadas con aceite de soya crudo que en la de aves que recibieron una mezcla de grasas animales y vegetales, manteca de cerdo o

aceite de palma, debido a la acumulación de ácidos grasos insaturados. El aceite de soya crudo se utiliza comúnmente para elaborar el alimento de las aves, esto significa que la carne resulta enriquecida con ácidos AGPI (Narciso-Gaytán *et al.*, 2010a).

El ácido linoléico conjugado es un compuesto de interés debido a su efecto en el organismo y puede ser incorporado a la carne desde el alimento de los animales (Zhang *et al.*, 2010; Narciso-Gaytán *et al.*, 2011). Este compuesto mejora las variables productivas y en carne evita la acumulación de grasa insaturada en las fibras musculares incrementando la cantidad de ácidos grasos saturados, principalmente mirístico y palmítico (Zhang *et al.*, 2010; Narciso Gaytán *et al.*, 2011).

El grado de insaturación de los ácidos grasos esta en relación con el índice relativo de oxidación, aquellos que contienen 1, 2, 3, 4, 5 o 6 enlaces dobles tienen una velocidad de oxidación 0.025, 1, 2, 4, 6 y 8 veces mayor respecto a los saturados (Morrissey *et al.*, 1998). Independientemente de su sensibilidad para oxidarse, el consumidor la prefiere por la cantidad de AGPI (Barroeta, 2007).

4.7.3. Antioxidantes en la carne de pollo

Al transformarse de músculo a carne, los antioxidantes endógenos dejan de funcionar; cambia el pH, para la estimulación eléctrica en los tejidos, la sangre residual de los tejidos, el hierro y el oxígeno facilitan la generación de radicales libres a partir de AGPI y la oxidación se propaga fácilmente (Asghar *et al.*, 1988).

Para proteger a los ácidos grasos de la oxidación, el organismo utiliza retinol, vitaminas C y D, carotenoides y elementos traza, como Cu, Mn, Zn y Se, contenidos en los músculos como antioxidantes (Gray y Pearson, 1987). Otra vía es administrar antioxidantes sintéticos o naturales (BHT, butil hidroxiltolueno; BHA, hidroxibutilanisol; EDTA, ácido etilendiaminotetraacético; nitrato sódico; ácido cítrico; ácido ascórbico; cisteína e histidina). Los extractos naturales de las plantas también funcionan como antioxidantes (Kanatt *et al.*, 1998).

Los antioxidantes del alimento puede proteger a la carne, debido a que se intercalan entre las membranas celulares (Asghar *et al.*, 1990). Se han estudiado: el ácido ascórbico (Bou *et al.*, 2001), la vitamina E (Cortinas *et al.*, 2005), el β -caroteno (Ruiz *et al.*, 1999), la carnosina (Burton *et al.*, 1985; Kohen *et al.*, 1988; O'Neill *et al.*, 1999), el ácido linoléico conjugado (Van

et al., 1995) y compuestos naturales como: aceites de orégano, romero, canela, té negro y verde (Botsoglou *et al.*, 2002a; Botsoglou *et al.*, 2002b; Luna *et al.*, 2010). Pero los estudios muestran que la vitamina E tiene más actividad (Buckley *et al.*, 1995).

La vitamina E es liposoluble, se absorbe con las grasas y se incorpora fácilmente a las membranas celulares y es un antioxidante eficaz, que actúa en el inicio de la oxidación (Wen *et al.*, 1997b). Sin embargo, la vitamina E tiene un alto costo en el mercado, por lo que se han realizado investigaciones en busca de otros antioxidantes naturales más económicos y con funciones similares (Lee *et al.*, 2004).

4.7.4. Procesado de la carne de pollo

El picado, la cocción y el almacenamiento de la carne favorecen la acción de los oxidantes como es la luz y el oxígeno. Durante la cocción de la carne se libera el hierro, hemoglobina, mioglobina, ferritina y hemosiderina que forman quelatos con aminoácidos, nucleótidos y fosfatos, y causan la oxidación de los lípidos (Kanner *et al.*, 1992; Decker *et al.*, 1993; Monahan *et al.*, 1993; Ang, 1988). El hierro sólo o unido al grupo hemo, se considera un fuerte prooxidante. También la hemoglobina, la mioglobina y la ferritina. Sin embargo, sus formas de acción no se conocen (Gray *et al.*, 1996).

Cualquier manejo (sobre la carne causa daño y altera la integridad de la membrana celular, quitar el hueso a la carne de forma manual o mecánica, el proceso y el cocimiento) causa daño a la carne cruda o cocida. Las tecnologías para elaborar productos cárnicos aceleran el proceso oxidativo, por lo tanto, deben desarrollarse sistemas que garanticen la calidad de los productos (Gray *et al.*, 1996).

El oxígeno es el prooxidante más abundante y su eliminación disminuye la oxidación de las grasas, incluso con AGPI ya sea en carne refrigerada o congelada (Ahn *et al.*, 1993a; Narciso-Gaytán *et al.*, 2011). Además, la oxidación de los ácidos grasos en la carne puede disminuir por medio de antioxidantes o mejorando las técnicas de empacado (Bonoli *et al.*, 2007; Narciso-Gaytán *et al.*, 2011).

4.7.5. Empacado de la carne de pollo

La oxidación lipídica se considera el mayor problema en la industria de la carne, por esto, se realizan investigaciones para conservar sus características más tiempo en almacenamiento y puede envasarse en bolsas, al vacío o con atmósfera modificada (60% CO₂ y 40% N₂). Pettersen *et al.* (2004) envasaron carne con oxígeno y al vacío por un año. Los valores del malondialdehído (MDA) fueron mayores en carne envasada con oxígeno a partir del sexto mes, con respecto a la empacada al vacío ($P < 0.05$). Ahn *et al.* (1998) reportaron mayores cantidades de MDA en carne cocida y almacenada en refrigeración, pero al envasarla al vacío, la formación de MDA disminuyó principalmente cuando se adicionaron 25-600 mg de vitamina E kg⁻¹ de alimento.

4.8. Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos químicos que se encuentran en pequeñas cantidades en los alimentos y su función es disminuir la oxidación de los ácidos grasos (Liu *et al.*, 1995). Naturales o sintéticos, han sido utilizados comúnmente para disminuir el proceso oxidativo de la carne y sus productos (Ahn *et al.*, 1993b). Pero los naturales son de fácil aceptación por el consumidor (Zhang *et al.*, 2010). Para clasificarlos se considera su origen y mecanismo de acción (Halliwell, 1995).

El Cuadro 2 muestra los antioxidantes del organismo y su división en enzimáticos y no enzimáticos. En el Cuadro 3 se observan los antioxidantes adicionados a la carne (Grün *et al.*, 2007). Los antioxidantes pueden mezclarse con la carne durante su procesamiento para disminuir su oxidación y mejorar sus características organolépticas.

Cuadro 2. Antioxidantes del organismo.

Enzimáticos	No enzimáticos
Superóxido dismutasa	Proteínas
Catalasa	Ácido ascórbico
Glutación peroxidasa	Carotenoides
Ceruloplasmina	Nucleótidos

Fuente: Grün *et al.*, 2007.

4.8.1. Mecanismo de acción

Los antioxidantes neutralizan a clases de oxígeno diferente (Cuadro 4), su efecto está en función del lugar donde el antioxidante se localice, su afinidad al medio y la capacidad que tenga para donar un hidrógeno (Yanishlieva *et al.*, 1999). Generalmente, los antioxidantes liberan un hidrógeno de su grupo hidroxilo (-OH), para neutralizar al radical lipídico y forman un complejo radical libre-radical acceptor (Percival, 1996). Sus efectos combinados son mayores que la suma de sus efectos individuales (Borek, 2004).

Cuadro 3. Antioxidantes adicionados a los alimentos.

Fenoles	Flavonoides	Polifenoles	Especias	Quelantes	Extractos de plantas
Tocoferol	Quercetina	Catequinas	<i>Rosmarinus</i> spp	Polifosfato	Té
BHA	Muricetina	Proantociadinas	<i>Syzygium</i> spp	EDTA	Nuez
BHT	Kaempferol	Taninos	<i>Thymus</i> spp	Ácido cítrico	Ajo
TBHQ	Krisina	Ácido elagico	<i>Origanum</i> spp	Lecitina	Mostaza
PG	Rutina	Ácido rosmarínico		Ácido fítico	

BHA:butilhidroxianisol, BHT: butilhidroxitolueno, TBHQ: Terbutilhidroquinona. PG: propilgalato, EDTA: ácidoetiléndiaminoetraacético. Fuente: Grün *et al.*, 2007.

Cuadro 4. Mecanismo de acción de los antioxidantes.

Especies reactivas de oxígeno	Antioxidante neutralizador
Radical hidróxilo	Vitamina C, glutatión, flavonoides, ácido lipoico.
Radical superóxido	Vitamina C, glutatión, flavonoides.
Peróxido de hidrógeno	Vitamina C, glutatión, beta caroteno, vitamina E, flavonoides, ácido lipoico
Peróxidos lipídicos	Beta caroteno, vitamina E, ubiquinona, flavonoides, glutatión peroxidasa

Fuente: Borek, 2004.

4.8.2. Antioxidantes sintéticos

Los antioxidantes sintéticos más utilizados son: butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), propilgalato (PG), terbutilhidroquinona (TBHQ) y ácidoetiléndiaminotetraacético (EDTA) (Bernal *et al.*, 2003). Hay evidencia del crecimiento de células cancerosas en el sistema digestivo de animales de laboratorio alimentados con estos compuestos (Ito *et al.*, 1983; Imaida *et al.*, 1983; Niki *et al.*, 1991; Yang *et al.*, 1998); el riesgo aumenta si se consumen varios de antioxidantes (Hirose *et al.*, 1997). A partir de las primeras evidencias de sus efectos nocivos, la adición de BHT en alimentos se suspendió en Japón, Canadá y países europeos (Shahidi, 2000).

4.8.3. Antioxidantes naturales

Los antioxidantes naturales son fenoles, polifenoles, flavonoides o compuestos de los aceites esenciales. Debido a sus propiedades, las investigaciones relacionadas con estos compuestos aumentaron los últimos años. Su beneficio fisiológico en las personas que los ingieren ha sido demostrado en estudios epidemiológicos, principalmente para disminuir problemas cardiovasculares y cáncer (Cozzi *et al.*, 1997; Borek, 2004). Los antioxidantes naturales más estudiados son: tocoferoles, tocotrienoles, sesamol, gossipol, glutatión, ascorbato, prolina, betaína, fenoles, timol, carvacrol, vitamina C, β -caroteno y selenio (Karou *et al.*, 2005; Goñi *et al.*, 2007; Jamilah *et al.*, 2008). De todos ellos, el α -Tocoferol es el antioxidante natural más importante, debido a su capacidad para intercalarse entre las membranas celulares y permanecer cercano a los AGPI (Wen *et al.*, 1997a). El estudio de estos productos aumenta por la demanda del consumidor que elige productos saludables y de buena calidad (Weiss *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2010).

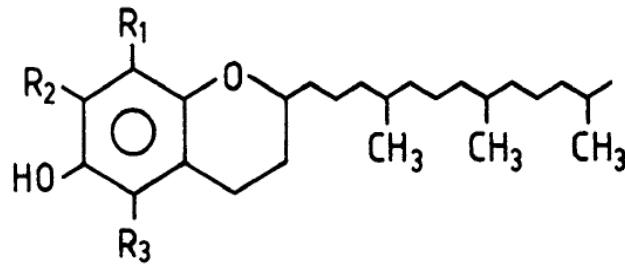
4.8.4. Vitamina E

La vitamina E (α -Tocoferol) es una molécula formada por un anillo 6-cromanol con una cadena lateral (Figura 2). Los tocoferoles y tocotrienoles son compuestos de la vitamina E, ambos en configuración α , β , δ y γ . En los tocoferoles, la cadena de isoprenos es saturada, y en los tocotrienoles tiene dobles ligaduras en los carbonos 3, 7 y 11 (Bjorneboe *et al.*, 1990).

El α -tocoferol se absorbe en el intestino, del cual 90% puede incorporarse a los tejidos, mientras que del tocotrienol sólo el 30% (Burton y Traber, 1990). Su actividad biológica se debe al grupo 6-hidroxilo (Burton y Ingold, 1981); la cadena lateral facilita su incorporación a las

bicapas de las membranas celulares. Puede haber una molécula de α -tocoferol por 2000 moléculas de fosfolípidos. Su acumulación es mayor en las membranas de las mitocondrias, el retículo endoplasmático del pulmón y corazón, y en tejidos donde la actividad oxidativa es alta (Burton y Ingold, 1981).

A



B

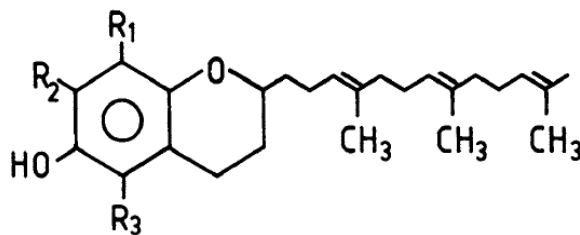


Figura 2. A. Estructura del α -tocoferol B. Estructura de α -tocotrienol. Fuente: Bjorneboe, 1990.

En las membranas celulares, el grupo 6-hidroxilo del α -tocoferol queda en posición óptima para eliminar radicales libres; la vitamina E dona fácilmente el hidrógeno de su grupo hidroxil (-OH) a un radical libre, haciéndolo no reactivo, o a un ácido graso libre al inicio de la oxidación (Figura 3; Niki *et al.*, 1985). Después de donar el hidrógeno, el α -tocoferol queda en forma de tocoferil y puede reducirse nuevamente a α -tocoferol, por la donación de un hidrógeno, posiblemente donado por la vitamina C (Macay, 1985; Lablerd *et al.*, 1986; Kagan, 1998).

Incrementar de 30 a 200 o 1000 mg de α -tocoferol kg^{-1} de alimento aumenta su cantidad en las membranas celulares, y disminuye la oxidación lipídica ($P \leq 0.05$) en músculo, mitocondrias y microsomas (Wen *et al.*, 1997a). Al incrementar la vitamina E de 30 a 200 mg kg^{-1} de alimento, aumenta seis veces su cantidad en las membranas microsomales (Mercier *et al.*, 2001).

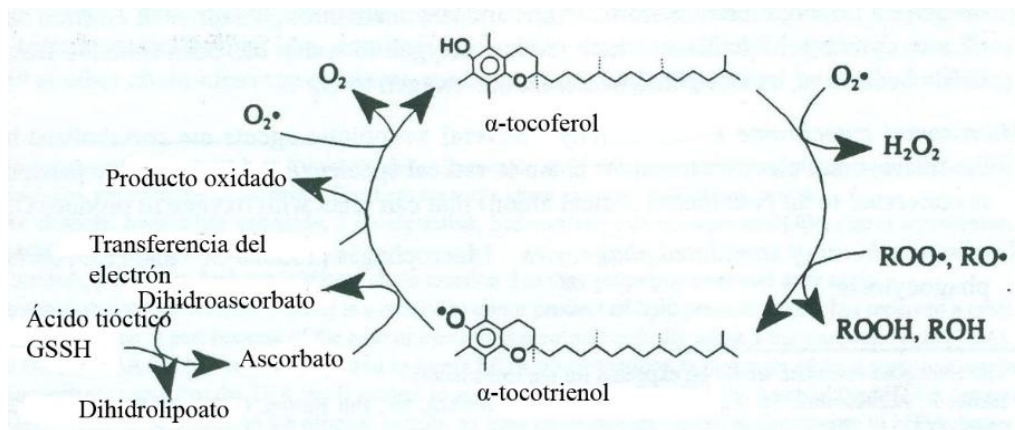


Figura 3. Ciclo de la vitamina E. Fuente: Combs, 1992.

Sin embargo, al exponer la carne a cocción, el incremento de la vitamina E, de 200 a 400 mg kg^{-1} de alimento, no evita la oxidación de los ácidos grasos. Concentraciones mayores de 200 mg kg^{-1} de alimento saturan los tejidos pero la oxidación lipídica continúa en carne dependiendo del nivel de procesamiento (Cortinas *et al.*, 2005).

La actividad antioxidante de la vitamina E en la carne de pollo depende de la cantidad de α -tocoferol depositado en las membranas celulares, donde ésta funciona como captador de radicales libres impidiendo el inicio y la propagación de la oxidación lipídica (Asghar *et al.*, 1988). Hay investigadores buscando una dosis adecuada de esta vitamina para disminuir el proceso oxidativo (Cortinas *et al.*, 2005; Narciso-Gaytán *et al.*, 2011).

La vitamina E en las membranas celulares establece un equilibrio de estabilidad oxidativa en carne refrigerada y congelada (Asghar, *et al.*, 1990). Esta vitamina ha sido considerada un antioxidante endógeno que puede mantener la calidad de la carne (Gray *et al.*, 1996).

4.8.5. Aceite de orégano

Las hojas de orégano se utilizan para mejorar las propiedades organolépticas de la comida. El aceite de orégano se extrae con ayuda de solventes orgánicos (Economou *et al.*, 1991; Dorman y Deans, 2000); éste es una mezcla de compuestos volátiles que varían según su origen (Hernández *et al.*, 2004; Muñoz *et al.*, 2007).

En los últimos años se han identificado más de 30 antioxidantes fenólicos en el aceite de orégano (Vekiari *et al.*, 1993); de los cuales, los principales son timol y carvacrol (Figura 4); y

representan hasta el 78 % del aceite (Lawrence y Reynolds, 1984; Adam *et al.*, 1998). Pero, los factores climáticos y la maduración de la planta afectan su composición (Kokkini *et al.*, 1997).

El timol y el carvacrol tienen propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antioxidantes y antisépticas (Lee *et al.*, 2004). Su mayor efecto antioxidante se detecta con aceites extraídos de plantas silvestres (Muñoz *et al.*, 2007), por lo que la industria alimentaria está interesada en adicionarlos como conservadores a los alimentos (Oral *et al.*, 2009). En nutrición animal son una alternativa para reemplazar a los promotores de crecimiento de las aves (Botsoglou *et al.*, 2002b), en la actualidad se investigan como antioxidantes que pueden adicionarse en el alimento de los animales (Luna *et al.*, 2010).

Hernández *et al.* (2004) adicionaron aceite de orégano como promotor de crecimiento, y no encontraron diferencias en las variables productivas ni en el peso de los órganos del sistema digestivo; resultados similares reportaron Isabel y Santos (2009). Estudios *in vitro* indican que el crecimiento bacteriano es inhibido por el aceite de orégano, por lo que es posible mejorar el aprovechamiento de los nutrientes (Hernández *et al.*, 2004).

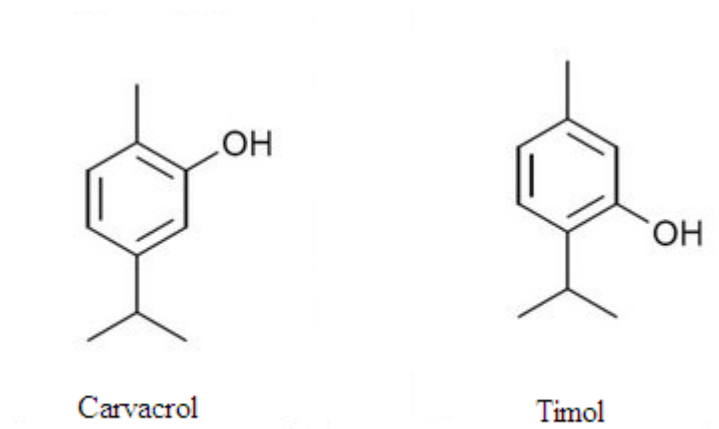


Figura 4. Estructura del carvacrol y timol. Fuente: Lee *et al.*, 2004.

De acuerdo con Lee *et al.* (2004), el efecto en el crecimiento de los animales debe ser significativo. Sin embargo, puede ser condicionado por el medio ambiente, condiciones de limpieza, sanidad, y salud de los animales.

En la actualidad, se investiga el aceite de orégano como antioxidante adicionado a los alimentos, y su efecto en la estabilidad de los ácidos grasos (Botsoglou *et al.*, 2002b; Luna *et al.*,

2010). Su mecanismo de acción es desconocido, pero posiblemente consiste en la liberación del hidrógeno de sus fenoles. Además, su afinidad a los lípidos puede jugar un papel importante en sus efectos antioxidantes (Frag *et al.*, 1989a), que le permite absorberse junto con las grasas e incorporarse a las membranas celulares, al ser ingeridos con los alimentos (Frag *et al.*, 1989b; Helander *et al.*, 1998).

Otra forma de adicionar el orégano es directamente a la carne (0.5 y 1%), esto mejora su calidad disminuyendo la oxidación de los lípidos (Kong *et al.*, 2010). Pero modifica su sabor, afectando la preferencia del consumidor, debido a los olores y sabores que podría transmitir a la carne (Zhang *et al.*, 2010).

4.8.6. Miel de abeja

En el mundo se producen 1.2 millones de toneladas de miel al año (Bogdanov *et al.*, 2008). México produce 56,000 t (4.6% de la producción mundial) y exporta 25 000 t. El consumo per cápita de miel en el país es de 300 g (SAGARPA, 2005), que comparado con países europeos, más de 1,100 g, es bajo (Güemes y Bautista, 2010).

Las abejas elaboran la miel a partir del néctar de las flores, esta sustancia se almacena en los panales, al perder humedad la miel sufre cambios físico-químicos, y por reacciones químicas causadas por la enzima sacarasa, dan origen al concentrado energético rico en glucosa y fructosa (Moguel *et al.*, 2005). La composición química de la miel está determinada por su origen botánico (Persano y Piro, 2004; Moguel *et al.*, 2005). Por lo tanto, hay mieles con diferentes sabores, colores y aromas. En la actualidad, se han identificados más de 500 compuestos en la miel (Bogdanov *et al.*, 2007). Algunos de éstos son los antioxidantes, fenólicos o flavonoides (Baltrusaityte *et al.*, 2007).

En la actualidad, no hay un método para el aislamiento de los compuestos individuales de la miel. Generalmente, se reportan como fenoles totales o flavonoides: el contenido de fenoles en mieles europeas es de 4.27 mg 100 g⁻¹ (Al-Mamary *et al.* 2002; Gheldof y Engeseth, 2002) y los flavonoides varían de 2.57 a 460 mg 100 g⁻¹ de miel (Meda *et al.*, 2005; Kenjeric *et al.*, 2007). En mieles mexicanas se reportan fenoles de 29 a 187 mg 100 g⁻¹, y flavonoides de 29 a 187 mg 100 g⁻¹ (Ruiz *et al.*, 2011).

El poder antioxidante de la miel se ha relacionado con la cantidad de compuestos fenólicos que contiene, lo cual aumenta su capacidad antioxidante (Aljadi y Kamaruddin, 2004). En miel

Mexicana, los flavonoides se relacionan con su capacidad antioxidante (Ruiz *et al.*, 2011). Debido a ello, la miel de abeja puede considerarse como un recurso de antioxidantes naturales, que pueden actuar, tanto en medios acuosos como aceitosos, afectando diferentes sitios celulares (Saija *et al.*, 1995; Aljadi y Kamaruddin, 2004).

La miel de abeja se adiciona a diferentes alimentos para conservarlos y enmascarar sabores. La miel deshidratada (de 1 al 20%) en carne de pavo disminuye la oxidación lipídica del 88 al 33% (Antony *et al.*, 2000); en carne de bovino se reportaron resultados similares (Johnston *et al.*, 2005). La cantidad de antioxidantes contenidos en la miel se relaciona con su color, la miel oscura tiene mayor cantidad de antioxidantes, comparada con mieles claras y brillantes (Blasa *et al.*, 2006).

4.9. Prueba de 2-ácido tiobarbitúrico (TBA)

Los métodos usados para cuantificar la oxidación lipídica detectan productos primarios y secundarios del proceso oxidativo. Para determinar la oxidación primaria se cuentan los peróxidos de la muestra o la pérdida de ácidos grasos insaturados (Fernández *et al.*, 1997). Para estimar la oxidación secundaria, se miden los grupos carbonilos o el malondialdehído, con la prueba de 2-ácido tiobarbitúrico (TBA; Gray y Monahan, 1992). Las técnicas mencionadas se pueden realizar por colorimetría o con el apoyo de un equipo HPLC o un cromatógrafo de gases. De los métodos utilizados para determinar la oxidación de las grasas en los alimentos, la prueba de TBA es una técnica representativa de la oxidación secundaria de los ácidos grasos y un método utilizado como referencia (Gray, 1978; Guillén-Sans y Guzmán-Chozas, 1998).

La prueba de TBA se utiliza para medir la oxidación lipídica secundaria en productos cárnicos; es una técnica fácil, rápida y económica (Jo y Ahn, 1998). El método se basa en la reacción de una molécula de malondialdehído con dos moléculas de TBA en un medio ácido, a temperatura elevada (≥ 90 °C), para formar un complejo (malondialdehído-TBA) color rosa, el cual se mide espectrofotométricamente a 532 nm (Figura 5; Brid y Draper, 1984). El nivel de oxidación se reporta como unidades de TBA en miligramos de malondialdehído por 1,000 g de muestra (Gray y Monahan, 1992).

El método TBA lo utilizaron por primera vez Patton y Kurtz (1951), para medir lípidos oxidados en leche; Tarladgis *et al.* (1960) lo propusieron como un método para medir la rancidez de los alimentos. A partir de esta publicación, se han propuesto muchas modificaciones. Sin

embargo, en la actualidad, la prueba TBA se considera una técnica estándar para cuantificar el MDA formado como producto secundario de la oxidación lipídica, particularmente en productos cárnicos. Durante el procedimiento, la muestra de carne se destila, paso que limita la cantidad de repeticiones para analizar en un día (Fernández *et al.*, 1997). Sin embargo, ésta es una metodología sensible en muestras con alto contenido de grasa (Hoyland y Taylor, 1991), es reproducible, confiable y se puede aplicar a muchos productos alimenticios, principalmente cárnicos (Sidwell *et al.*, 1995).

Durante la destilación de la muestra hay una etapa de calentamiento en condiciones ácidas, parte necesaria para la reacción (Fernández *et al.*, 1997). Al elevar la temperatura de la muestra, en un medio ácido, se libera una molécula de MDA de su precursor en la carne que reacciona con dos moléculas de TBA, para formar el complejo TBA-MDA característico de la reacción. Buttkus y Marnett (1985) y Girón-Calle *et al.* (2003) mencionan que la temperatura y la acidez de la reacción aumentan los valores del TBA, debido a que el TBA puede reaccionar con aminoácidos, proteínas, vitaminas, azúcares, ácidos y metales presentes en la carne o derivados cárnicos (Siu y Draper 1978; Salih *et al.* 1987; Decker *et al.*, 1993).

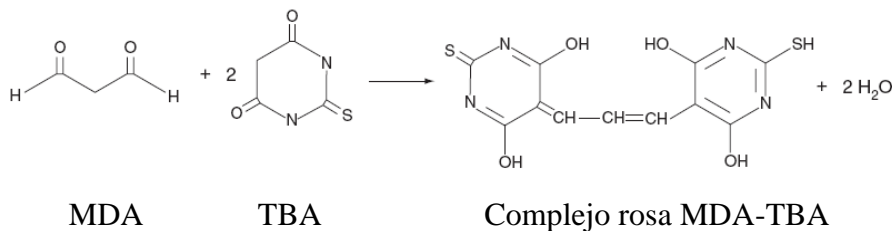


Figura 5. Malondialdehído (MDA), ácido tiobarbitúrico (TBA) y complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico. Fuente: Girón-Calle *et al.*, 2003.

Los artefactos formados durante la reacción son sustancias reactivas de TBA (TBARS); a pH de 2 y 7, su espectro ultravioleta es idéntico al complejo TBA-MDA y pueden aumentar los valores de TBA al medir las muestras en el espectrofotómetro (Fernández *et al.*, 1997). En los tejidos de los animales, antes de sacrificarlos, los hidropéroxidos también afectan los valores de TBA, en las muestras analizadas (Janero y Burghardt, 1989); el tipo de cocimiento de la carne, el

tiempo de exposición al fuego y la temperatura, son factores que pueden incrementar la oxidación de los ácidos grasos (Igene y Pearson, 1979; Hoyland y Taylor, 1991).

5. Literatura citada

- Adam, K., A. Sivropoulou, S. Kokkini, T. Lanaras, and M. Arsenakis. 1998. Antifungal activities of *Origanum vulgare* ssp. *Hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human patho-genic fungi. *J. Agr. Food. Chem.* 46: 1739-1745.
- Ahn, D. U., A. Ajuyah, F.H. Wolfe, and J.S. Sim. 1993a. Oxygen availability affects prooxidant catalyzed lipid oxidation of cooked turkey patties. *J. Food Sci.* 58: 278-282.
- Ahn, D. U., F. H. Wolfe, J. S. Sim. 1993b. Prevention of lipid oxidation in pre-cooked turkey meat patties with hot packaging and antioxidant combinations. *J. Food Sci.* 58: 283-287.
- Ahn, D. U., J. L. Sell, C. Jo, X. Chen, C. Wu, and J. I. Lee. 1998. Effects of dietary vitamin E supplementation on lipid oxidation and volatil content of irradiated, cooked turkey meat patties with different packaging. *Poult. Sci.* 77: 912-920.
- Aljadi, A. M, and M.Y. Kamaruddin. 2004. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chem.* 85: 513-518.
- Al-Mamary, M., A. Al-Meerri, and M. Al-Habori. 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr. Res.* 22: 1041-1047.
- Alonso, P. F. A y R. Acevedo B. 2009. Análisis de algunos aspectos económicos en la avicultura productora de carne de pollo. *Ganadería y seguridad alimentaria en tiempo de crisis.* Universidad Autónoma de Chapingo. 1^{ra} Ed. México, D.F.
- Ang, C. Y. W. 1988. Comparison of broiler tissues for oxidative changes after cooking and refrigerated storage. *J. Food Sci.* 53: 1072-1075.
- Antony, S., J. R. Rieck, and P. L. Dawson. 2000. Effect of dry honey on oxidation in turkey breast meat. *Poult. Sci.* 79: 1846-1850.
- Asghar, A., J. I. Gray, D. J. Buckley, A. M. Pearson, and A. M. Booren. 1988. Perspectives in warmed-over flavour. *J. Food Sci. Tech. Mys.* 42: 102.
- Asghar, A., C.F. Lin, J. I. Gray, D. J. Buckley, A. M. Booren, and C. J. Flegal. 1990. Effects of dietary oils and α -tocopherol supplementation on membranal lipid oxidation in broiler meat. *J. Food Sci.* 55: 46-51.
- Bagga, D., S. Capone, H. Wang, H. Heber, M. Lill, L. Chap, and J. Glaspy. 1997. Dietary modulation of omega-3 omega-6 polyunsaturated fatty acid ratios in patients with breast cancer. *J. Natl. Cancer I.* 15: 1123-1131.

- Baião, N. C. and Lara, L. J. C. 2005. Oil and fat in broiler nutrition. *Br. J. Poultry Sci.* 7: 129-141.
- Baltrusaitė, V., P. V. Rimantas., and V. Cėksteryte. 2007. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. *Food Chem.* 101: 502-514.
- Barberán, T. F. A., I. Matos, F. Ferrer, B. S. Radovic, and E. Anklam. 2001. HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *J. Sci. Food Agr.* 81: 485-496.
- Barroeta, A. C. 2007. Nutritive value of poultry meat: relationship between vitamin E and PUFA. *W. Poult. Sci.* 63: 277-284.
- Bernal, M. E. G., C. X. Mendonça, and J. M. Filho. 2003. Estabilidad oxidativa de huevos enriquecidos con ácidos grasos poliinsaturados omega 3, frente a antioxidantes naturales. *Br. J. Pharm. Sci.* 39: 425-432.
- Bjorneboe, A., G. E. Bjorneboe, and A. Drevoh. 1990. Absorption, transport and distribution of vitamin E. *J. Nutr.* 120: 233-242.
- Blankson, H., J. A. Stakkestad, H. Fagertun, E. Thom, J. Wadstein, and O. Gudmundsen. 2000. Cojugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J. Nutr.* 130: 2943-2948.
- Blasa, M., M. Candiracci, A. Accorsi, M. P. Piacentini, M. C. Albertini, and E. Piatti. 2006. Raw millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chem.* 97: 217-222.
- Bogdanov, S., K. Ruoff, and O. Persano. 2007. Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honeys; a review. *Apidologie.* 35: 4-17.
- Bogdanov, S., T. Jurendic, R. Sieber, and P. Gallmann. 2008. Honey for nutrition and health: a review. *J. Am. Coll. Nutr.* 27: 677-689.
- Bonoli, M., M. Fiorenza, C. M. T. Rodriguez-Estrada, and G. Lercker. 2007. Effect of feeding fat sources on the quality and composition of lipids of precooked ready-to-eat fried chicken patties. *Food Chem.* 101: 1327-1337.
- Borek, C. 1994. Ω -3 fatty acids as anticarcinogens: cellular and molecular studies. In: *Effect of fatty acid and lipid in health and disease.* World Press Review. 76: 66-69.
- Borek, C. 2004. Dietary antioxidants and human cancer. *Integr. Cancer Ther.* 3: 333-341.

- Botsoglou, N. A., E. Christaki, D. J. Fletouris, P. Florou-Paneri, and A. B. Spais. 2002a. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Sci.* 62: 259-265.
- Botsoglou, N. A., P. Florou-Paneri, E. Christaki, D. J. Fletouris, and A. B. Spais. 2002b. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *Br. Poult. Sci.* 43: 223-230.
- Bou, R., F. Guardiola, A. Grau, S. Grimpa, A. Manich, A. Barroeta, R. and R. Codony. 2001. Influence of dietary fat source, α -tocopherol, and ascorbic acid supplementation on sensory quality of dark chicken meat. *Poult. Sci.* 80: 1-8.
- Brid, R. P. and Draper, H. H. 1984. Comparative studies of different methods of malondialdehyde determination. *Method. Enzymol.* 105: 299-305.
- Buckley, D. J., P. A. Morrissey, and J. I. Gray. 1995. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *J. Anim. Sci.* 73: 3122-3130.
- Buettner, G. R. 1993. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* 300: 535-543.
- Burton, J. R., and K. U. Ingold. 1981. Autoxidation of biological molecules. The antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants *in vitro*. *J. Am. Chem. Soc.* 103: 6472-6477.
- Burton, G. W., D. D. Foster, B. Perly, T. F. Slater, I. C. P. Smith, and K. U. Ingold. 1985. Biological antioxidants. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 311: 565-576.
- Burton, G. B., and M. G. Traber. 1990. Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics and bioavailability. *Ann. Rev. Nutr.* 10: 357-382.
- Buttkus, H., and R. J. Marnett. 1985. Amine-malonaldehyde condensation products and their relative colour contribution to the thiobarbituric acid test. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 49: 440-443.
- Combs, G. F. 1992. *The vitamins*. Academic Press. Ithaca, New York. p. 199.
- Cortinas, L., A. Barroeta, C. Villaverde, J. Galobart, F. Guardiola, and M. D. Baucells. 2005. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. *Poult. Sci.* 84: 48-55.
- Cozzi, R., R. Ricordy, T. Aglitti, V. Gatta, P. Petricone, and R. Salvia. 1997. Ascorbic acid and β -caroteno as moduladors of oxidative damage. *Carcinogenesis.* 18: 223-228.

- Cherian, G., R. K. Selvaraj, M. P. Goeger, and P. A. Stitt. 2002. Muscle fatty acid composition and thiobarbituric acid-reactive substances of broilers fed different cultivars of sorghum. *Poult. Sci.* 81: 1415-1420.
- Crespo, N, and E. Esteve-García. 2002. Nutrient and fatty acid deposition in broilers fed different dietary fatty acid profiles. *Poult. Sci.* 81: 1533-1542.
- Decker, E. A., A. D. Crum, N. C. Shantha, and P. A. Morrissey. 1993. Catalysis of lipid oxidation by iron from an insoluble fraction of beef diaphragm muscle. *J. Food Sci.* 58: 233-236.
- Dimitrios, B. 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends. Food. Sci. Tech.* 17: 505-512.
- Dorman, H. J. D. and S. G. Deans. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatiles oils. *J. Appl. Microbiol.* 83: 308-316.
- Economou, K. D., Oreopoulou, V. and C. D. Thomopoulos. 1991. Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68: 109-13.
- Farag, R. S. A., Z. M. A. Badei, F. M. Hewedi, and G.S.A. Elbaroty. 1989a. Antioxidant activity of some spice essential oils on linolenic acid oxidation in aqueous media. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 66: 792-799.
- Farag, R. S., Z. Y. Daw and S. H. AboRaya. 1989b. Influence of some spice essential oils on *Apergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. *J. Food Sci.* 54: 74-76.
- Fernández, J., J. A. P. Pérez-Álvarez, and J. A. Fernández-López. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chem.* 59: 345-353.
- Fleischhauer, F. J., W. D. Yan, and T. A. Fischell. 1993. Fish oil improves endothelium-dependent coronary vasodilation in heart transplant recipients. *J. Am. Coll. Cardiol.* 21: 982-989.
- Frangos, L., N. Pyrgotou, V. Giatrakou, A. Ntzimani, and I. N. Savvaidis. 2010. Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets. *Food Microbiol.* 27: 115–121.
- Girón-Calle, J., M. Alaiz, F. Millán, V. Ruiz-Gutiérrez, and E. Vioque. 2003. Bound malondialdehyde in foods: Bioavailability of the N,N'-di-(4-methyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarbaldehyde) lysine. *J. Agr. Food. Chem.* 51: 4799-4803.

- Gheldof, N., and N. J. Engeseth. 2002. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *J. Agr. Food. Chem.* 50: 3050-3055.
- Gonzalo, M. P. 1997. Tabla de composición de alimentos. Nutricia, S. A. Madrid, España. 16 p.
- Goñi, I., A. Brenes, C. Centeno, A. Viveros, F. Saura-Calixto, A. Rebole, I. Arija, and R. Estevez. 2007. Effect of dietary grape pomace and vitamin E on growth performance, nutrient digestibility, and susceptibility to meat lipid oxidation in chickens. *Poult. Sci.* 86: 508–516.
- Gray, J. I. 1978. Measurement of lipid oxidation: a review. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 55: 539-546.
- Gray, J. I, and A. M. Pearson. 1987. Rancidity and warmed-over flavour. In A. M. Person & T. R. Dutson (Eds) *Advance in Meet Research* pp. 221-269.
- Gray, J. I. and F. J. Monahan. 1992. Measurement of lipid oxidation in meat and meat products. *Trends. Food. Sci. Tech.* 3: 315-319.
- Gray, J. I., E. A. Goma, and D. J. Buckley. 1996. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Sci.* 43: 111-123.
- Guillén-Sans, R. and M. Guzmán-Chozas. 1998. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: a review. *Crit. Rev. Food Sci.* 38: 315-330.
- Gutteride, J. M., R. Richmond, and B. Halliwell. 1986. Inhibition of iron-catalysed formation of hydroxyl radicals from superoxide and of lipid peroxidation by desferrioxamine. *J. Biochem-Tokio.* 184: 469-472.
- Grün, I. U., J. Ahn, A. D. Clarke, and C. L. Lorenzen. 2007. Use of natural antioxidant systems is a viable approach to reduce oxidative deterioration and warmed-over flavour development in meat products. *Food Technol-Chicago.* 60: 37-43.
- Güemes, R. F. J., y Bautista, Y. E. J. 2010. Perfil de mercado para miel natural en la Unión Europea. *UQRRO*, 123 p.
- Halliwell, B. 1995. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. *Biochem. Pharmacol.* 49: 1341-1348.
- Halliwell., B, and S. Chirico. 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *A. J. Clin. Nutr.* 57: 715-724.

- Halliwell, B., M. A. Murcia, S. Chirico, and O. I. Aruoma. 1995. Free radicals and antioxidants in vivo: what they do and how they work. *Crit. Rev. Food Sci.* 35: 7-20.
- Helander, I. M., H. L. Alakomi, K. Latva-Kala, T. M. Sandholm, L. Pool., E. J. Smid, L. G. M. Gorris and A. Vont Wrieth. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. *J. Agr. Food. Chem.* 46: 3590-3595.
- Hernández, J. F., V. Madrid, J. García, J. Orengo, and M. D. Megías. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult. Sci.* 83: 169-174.
- Hirose, M., Y. Takesada, H. Tanaka, S. Tamano, T. Kato, and T. Shirai. 1997. Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model. *J. Carcin.* 19: 207-212.
- Hoyland, D. V. and A. J. Taylor. 1991. A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. *Food Chem.* 40: 271-291.
- Igene, J. O. and A. M. Pearson. 1979. Role of phospholipids and triglycerides in warmed-over flavor development in meat model systems. *J. Food Sci.* 44: 1285-1290.
- Igene, J. O., K. Yamauchi, A. M. Pearson, J. I. Gray, and S. D. Aust. 1985. Evaluation of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in relation to warmed-over flavour (WOF) development on cooked chicken. *J. Agr. Food. Chem.* 33: 364-367.
- Imaida, K., S. Fukushima., T. Shirai., M. Ohtani., K. Nakanishi, and N. Ito. 1983. Promoting activities of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on 2-stage urinary bladder carcinogenesis and inhibition of γ -glutamyl transpeptidase-positive foci development in the liver of rats. *J. Carcin.* 4: 895-899.
- Isabel, B., y Y. Santos, 2009. Efectos de los aceites esenciales en la alimentación de los pollos de carne. *Arch. Zootec.* 58: 597-600.
- Ito, N., S. Fukushima, A. Hagiwara., M. Shibata, and T. Ogiso. 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Natl. Cancer I.* 70: 343-352.
- Jamilah, M. B., K. A. Abbas, and R. A. Rahman. 2008. A review on some organic acids additives as shelf life extenders of fresh beef cuts. *A. J. Agr. Biol. Sci.* 3: 566-574.

- Janero, D. R. and B. Burghardt. 1989. Thiobarbituric acid reactive malondialdehyde formation during superoxide dependent, iron-catalyzed lipid peroxidation: influence of peroxidation conditions. *Lipids*. 24: 125-131.
- Janice, K., K. Glaser, A. Belury, K. Porter, Q. David, M. Beversdorf, M. Stanley, G. Lemeshow, and R. Glaser. 2007. Depressive symptoms, omega-6:omega-3 fatty acids, and inflammation in older adults. *Psychosom. Med.* 69: 217-224.
- Jo, C., and D. U. Ahn. 1998. Fluorometric analysis of 2-thiobarbituric acid reactive substances in turkey. *Poult. Sci.* 77: 475-480.
- Johnston, J. E., H. A. Sepe, C. L. Miano, R. G. Brannan, and A. L. Alderton. 2005. Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. *Meat Sci.* 77: 627-631.
- Kagan, V. E. 1998. Recycling and redox cycling of phenolic antioxidants. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 854: 425-434.
- Kanatt, S. R., P. Paul, S. F. D'Souza, and P. Thomas. 1998. Lipid oxidation on chicken meat during chilled storage as affected by antioxidants combined with low-dose gamma irradiation. *J. Food Sci.* 63: 198-200.
- Kanner, J., S. Harel, and B. Hazan. 1986. Muscle membranal lipid peroxidation by an "iron redox cycle" system: initiation by oxy radicals and site-specific mechanism. *J. Agr. Food. Chem.* 34: 506-510.
- Kanner, J., J. B. German, and J. E. Kinsella. 1987. Initiation of lipid peroxidación in biological systems. *Crit. Rev. Food Sci.* 25: 317-364.
- Kanner, j., B. Hazan, and L. Doll. 1988. Catalytic "free" iron in muscle foods. *J. Agr. Food. Chem.* 36: 412-415.
- Kanner, J and I. Rosenthal. 1992. An assessment of lipid oxidation in foods. *Pure Appl. Chem.* 64: 1959-1964.
- Kanner, J., S. Harel, and R. Granit. 1992. Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. In: *Proc. 38th International Congress Meat Science Technical*. pp 111-125. Clermont-Ferrand, France.
- Karou, D. H. M. Dicko, J. Simporé, and A. S. Traore. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *A. J. Biotechnol.* 4: 823-828.

- Kenjeric, D., M. L. Mandic, L. Primorac, D. Bubalo, and A. Perl. 2007. Flavonoid profile of robina honeys produced in Croatia. *Food Chem.* 102: 683-690.
- Kohen, R., Y. Yamamoto, K. C. Lundy, and B. N. Ames. 1988. Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine and anserine present in muscle and brain. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85: 3175-3179.
- Kokkini, S., R. Karousou, A. Dardioti, N. Krigas, and T. Lanaras. 1997. Autumn essential oils of greek oregano. *Phytochemistry.* 44: 883-886.
- Kong, B., H. Zhang, and Y. L. Xiong. 2010. Antioxidant activity of spice extracts in a liposome system and in cooked pork patties and the possible mode of action. *Meat Sci.* 85: 772-778.
- Lablerd, C., D. S. Kling, and J. Reed. 1986. Antioxidant protection of phospholipid bilayers by α -tocopherol. *Biol. Chem.* 261: 12114-12119.
- Lawrence, B. M., and R. J. Reynolds. 1984. Progress in essential oils. *Perfumer and Flavorist Magazine* 9: 23-31.
- Lee, K. W., H. Everts, and A. C. Beynen. 2004. Essential oils in broiler nutrition. *Int. J. Poul. Sci.* 3: 738-752.
- Leeson, S., and J. D. Summers. 2001. *Summers Nutrition of the chicken.* 4th ed. Ontario: University Books; 413p.
- Leeson S. and J. D. Summers. 2005. *Commercial poultry nutrition.* University Books. Ontario, Canada. 405 p.
- Lin, C. F., J. I. Gray, A. Ashgar, D. J. Buckley, A. M. Booren, and C. J. Flegal. 1989. Effects of dietary oils and α -tocopherol supplementation on lipid composition and stability of broiler meat. *J. Food Sci.* 54: 1457-1460.
- Liu, Q., M. C. Lanari, and D. M. Schaefer. 1995. A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *J. Anim. Sci.* 73: 3131-3140.
- López-Ferrer, S., M. D. Baucells, A. C. Barroeta, and M. A. Grashorn. 1999. N-3 enrichment of chicken meat using fish oil: Alternative substitution with rapeseed and linseed oils. *Poult. Sci.* 78: 356-365.
- Lu, L., X. G. Luo, C. Ji, B. Liu, and S. X. Yu. 2007. Effect of manganese supplementation and source on carcass traits, meat quality, and lipid oxidation in broilers. *J. Anim. Sci.* 85: 812-822.

- Luna, A., M. C. Labaque, J. A. Zygadlo, and R. H. Marin. 2010. Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. *Poult. Sci.* 89: 366-370.
- Macay, P. B. 1985. Vitamin E: Interactions with free radicals and ascorbate. *Annu. Rev. Nutr.* 5: 323-340.
- Martos, M. V., Y. R. Navajas., J. F. López., J. A. P. Álvarez. 2010. Effect of orange dietary fibre, oregano essential oil and packaging conditions on shelf-life of bologna sausages. *Food Control.* 21: 436-443.
- Marusich, W. L., E. De Ritter, E. F. Keating, M. Mitrovic, and R. H. Bunnell. 1975. Effect of supplemental vitamin E in control of rancidity in poultry meat. *Poult. Sci.* 54: 831-844.
- Mateos, G. G., P. G. Rebollar, y P. Medel. 1996. Utilización de grasas y productos lipídicos en alimentación animal: grasas puras y mezclas. XII Curso de especialización FEDNA. Madrid, España. Pp. 1-21.
- Meda, A., Euloge. C. L., M. Romito, J. Millogo, O. N. Germaine. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91: 571-577.
- Mercier, Y., P. Gatellier, M. Remignon, and M. Renerre. 1998. Effect of dietary fat and vitamin E on lipid and protein oxidation in turkey meat during storage. *Meat Sci.* 48: 301-317.
- Mercier, Y., P. Gatellier, A. Vinvet, and M, Renerre. 2001. Lipid and protein oxidation in microsomal fraction from turkeys: influence of dietary fat and vitamin E supplementation. *Meat Sci.* 58: 125-134.
- Moguel, O. Y. B., C. G. Echazarreta, y R. E. Mora. 2005. Calidad fisicoquímica de la miel de abeja *Apis mellifera* producida en el estado de Yucatán durante diferentes etapas del proceso de producción y tipos de floración. *Técnica Pecuaria México.* 43: 323-334.
- Monahan, F. J., D. J. Buckley, J. I. Gray, P. A. Morrissey, A. Asghar, T. J. Hanrahan, and P. B. Lynch. 1990. Effect of dietary vitamin E on the stability of raw and cooked pork. *Meat Sci.* 27: 99-108.
- Monahan, F. J., R. L. Crackel, J. I. Gray, D. J. Buckley, and P. A. Morrissey. 1993. Catalysis of lipid oxidation in muscle model systems by haem and inorganic iron. *Meat Sci.* 34: 95-106.

- Mori, T. A., L. J. Beilin, V. Burke, J. Morris, and J. Ritchie. 1997. Interactions between dietary fat, fish, and fish oils and their effects on platelet function in men at risk of cardiovascular disease. *Arterioscl. Throm. Vas.* 17: 279-286.
- Morrissey, P. A., P. J. A. Sheehy, K. Galvin, J. P. Kerry, and D. J. Buckley. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Sci.* 49: 73-86.
- Mourot, J., and D. Hermier. 2001. Lipids in monogastric animal meat. *Reprod. Nutr. Dev.* 41: 109-118.
- Muñoz, A. A., M. L. Castañeda, K. M. Blanco, C. Y. Cárdenas, J. A. Reyes, y V. V. Kouznetsov. 2007. Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de timol y carvacrol. *Scientia et Technica* 33: 125-128.
- Narciso, G. C. 2002. Estimación de energía metabolizable y valor biológico de aceite de soya con alto contenido de ácidos grasos libres, para la alimentación de aves. Tesis. Maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco. Edo. de México. pp 36.
- Narciso-Gaytán, C., D. Shin, A. R. Sams, C. A. Bailey, R. K. Miller, S. B. Smith, O. R. Leyva-Ovalle, and M. X. Sanchez-Plata. 2010a. Soybean, palm kernel, and animal-vegetable oils and vitamin E supplementation effect on lipid oxidation stability of sous vide chicken meat. *Poult. Sci.* 89: 721-728.
- Narciso-Gaytán, C., D. Shin, A. R. Sams, J. T. Keeton, R. K. Miller, S. B. Smith, and M. X. Sanchez-Plata. 2010b. Dietary lipid source and vitamin E effect on lipid oxidation stability of refrigerated fresh and cooked chicken meat. *Poult. Sci.* 89: 2726-2734.
- Narciso-Gaytán, C., D. Shin, A. R. Sams, J. T. Keeton, R. K. Miller, S. B. Smith, and M. X. Sanchez-Plata. 2011. Lipid oxidation stability of omega-3- and conjugated linoleic acid-enriched *sous vide* chicken meat. *Poult. Sci.* 90: 473-480.
- Nestel, P. J. 1990. Effect of n-3 fatty acids on lipid metabolism. *Ann. Rev. Nutr.* 10: 149-167.
- Niki, E., Kawakama, I., M. Saito., Y. Yamamoto., J. Tsuchiyaj., and Y. Kamiya. 1985. Effect of phtyl side chain of vitamin E on its antioxidant activity. *Biol. Chem.* 260: 2191-2196.
- Niki, D., Y. Yamamoto., E. Komuro, and K. Sato. 1991. Membrane damage due to lipid oxidation. *A. J. Clin. Nutr.* 53: 201-205.
- O'Neill, L. M., K. Galvin, P. A. Morrissey, and D. J. Buckley. 1999. Effect of carnosine, salt and dietary vitamin E on the oxidative stability of chicken meat. *Meat Sci.* 52: 89-94.

- Oral, N., L. Vatansever, C. Sezer, B. Aydın, A. Guven, M. Gulmez, K. H. C. Başer, and M. Kurkcuoğlu. 2009. Effect of absorbent pads containing oregano essential oil on the shelf life extension of overwrap packed chicken drumsticks stored at four degrees celsius. *Poult. Sci* 88: 1459-1465.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación, 2009. Producción Agrícola FAOSTAT. [en línea: <http://faostat.fao.org/Desktop/Default.aspx?PageID=291&lang=es>]
- Patton, S., and G. W. Kurtz. 1951. 2-Thiobarbituric acid as a reagent for detecting milk fat oxidation. *J. Dairy Sci.* 34: 669-674.
- Percival, M. 1996. Antioxidants. *Am. J. Clin. Nutr.* 1: 1-4.
- Pérez, M. J. 2011. Estimación de la energía metabolizable de dos aceites acidulados de soya y su efecto en la producción de pollas y gallinas Bovans White. Tesis. Maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco. Edo. de México. pp 37.
- Persano, O, and L. R. Piro. 2004. Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie.* 35: 38-81.
- Pettersen, M. K., M. B. Mielnik, T. Eie, G. Skrede, and A. Nilsson. 2004. Lipid oxidation in frozen, mechanic deboned turkey meat as affected by packaging parameters and storage conditions. *Poult. Sci* 83: 1240-1248.
- Rosenberg I. H. 2002. Fish-food to calm the heart. *New Engl. J. Med.* 346: 1102-1103.
- Ruiz, J. A., A. M. Pérez-Vendrell, and E. Esteve-García. 1999. Effect of β -carotene and vitamin E on peroxidative stability in leg meat of broilers fed different supplemental fats. *J. Agr. Food. Chem.* 47: 448-454.
- Ruiz, Y., M. M. Viuda, J. L. Fernández, J. M. C. Zaldivar, V. Kuric and J. A. Pérez A. 2011. Antioxidant activity of artisanal honey from Tabasco, Mexico. *Int. J. Food Prop.* 14: 459-470.
- Rymer, C., R. A. Gibbs, and D. I. Givens. 2010. Comparison of algal and fish sources on the oxidative stability of poultry meat and its enrichment with omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Poult. Sci.* 89: 150-159.
- SAGARPA. 2005. Estadísticas, estimación del consumo nacional aparente. [én línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Estadisticas/Lists/Estadsticcas/Attachments/6/Esti>]

maci%C3%B3n%20del%20Consumo%20Nacional%20Aparente%201990-005%20Miel%20de%20abeja.pdf].

- Saija, A., M. Scalese, M. Lanza, D. Marzullo, F. Bonina, and F. Castelli. 1995. Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes. *Free Radical Bio. Med.* 19: 481-486.
- Salih, A. M., Smith, D. M., Price, J. F. and L. E. Dawson. 1987. Modified extraction 2-thiobarbituric acid method for measuring lipid oxidation in poultry. *Poult. Sci.* 66: 1483-1488.
- Sanz , M., Flores, A., and C. J. Lopez-Bote. 1999. Effect of fatty acid saturation in broiler diets on abdominal fat and breast muscle fatty acid composition and susceptibility to lipid oxidation. *Poult. Sci.* 78: 378-382.
- Sárraga, C., I. Carreras, and R. J. A. García. 2002. Influence of meat quality and NaCl percentage on glutathione peroxidase activity and values for acid-reactive substances of and dry-cured *Longissimus dorsi*. *Meat Sci.* 62: 503-507.
- Schwalfenberg, G. 2006. Omega-3 fatty acids their beneficial role in cardiovascular health. *Can. Fam. Physician.* 52: 734-740.
- Sibbald, I. R., and J. K. G. Kramer. 1977. The true metabolizable energy values of fats and fat mixtures. *Poult. Sci.* 56: 2079-2086.
- Shahidi, F. 2000. Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung.* 44: 158-163.
- Shin. D., C. Narciso-Gaytán, J. H. Park, S. B. Smith, M. X. Sanchez-Plata, and C. A. Ruiz-Feria. 2011. Dietary combination effects of conjugated linoleic acid and flaxseed or fish oil on the concentration of linoleic and arachidonic acid in poultry meat. *Poult. Sci.* 90: 1340-1347.
- Sidwell, C. G., H. Salwin, and J. H. Mitchell. 1995. Measurement of oxidation in dried milk products with thiobarbituric acid. *J. Am. Chem. Soc.* 32: 13-16.
- Simopoulos, A. P. 2002. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J. Am. Coll. Nutr.* 21: 495-505.
- Siu, G. M., and H. H. Draper. 1978. A survey of the malonaldehyde content of retail meats and fish. *J. Food Sci.* 43: 1147-1149.

- Sklan, D., Z. Tenne, and P. Budowski. 1983. The effect of dietary fat and tocopherol on lipolysis and oxidation in turkey meat stored at different temperatures. *Poult. Sci.* 62: 2017-2021.
- Suksombat, W., T. Boonmee, and P. Lounglawan. 2007. Effects of various levels of conjugated linoleic acid supplementation on fatty acid content and carcass composition of broilers. *Poult. Sci.* 86: 318-324.
- Symeon, G. K., C. Zintilas, C. Ayoutanti, J. A. Bizelis, and A. Deligeorgis. 2009. Effect of dietary oregano essential oil supplementation for and extensive fattening period on growth performance and breast meat quality of female medium-growing broilers. *Can. J. Anim. Sci.* 89: 331-334.
- Tanaka, K., S. Ohtani, and K. Shigeno. 1983. Effect of increasing dietary energy on hepatic lipogenesis in growing chicks. Increasing energy by carbohydrate supplementation. *Poult. Sci.* 62: 445-541.
- Tarladgis, B. G., B. M. Watts, and M. T. Younathan. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 37: 44-48.
- Thurnham, D. 1990. Antioxidants and prooxidants in malnourished populations. *P. Nutr. Soc.* 49: 247-259.
- Unión Nacional de Avicultores. 2009. Compendios de indicadores económicos del sector avícola 2009. Dirección de Estudios Económicos, México, D.F. 106 p.
- Unión Nacional de Avicultores. 2011. Indicadores económicos. Consultado el día 3 de noviembre de 2009. [en línea: <http://www.una.org.mx/index.php?option=com>]
- Van der Berg, J. J. M., N. E. Cook, and D. L. Tribble. 1995. Reinvestigation of the antioxidants properties of conjugation linolenic acid. *Lipids.* 30: 599-605.
- Vekiari, S. A., V. Oreopoulou, C. Tzia, and C. D. Thomopoulos. 1993. Oregano flavonoids as lipid antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70: 483-487.
- Vieira, S. L., and I. L. Lima. 2005. Live performance, water intake and excreta characteristics of broilers fed all vegetable diets based on corn and soybean meal. *Int. J. Poul. Sci.* 4: 365-368.
- Weiss, J., M. Gibis, V. Schuh, and H. Salminen. 2010. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Sci.* 86: 196-213.

- Wen, J., P. A. Morrissey, D. J. Buckley., and P. J. A. Sheehy. 1997a. Supranutritional Vitamin E supplementation in pigs: influence on subcellular deposition of α -tocopherol and on oxidative stability by conventional and derivative spectrophotometry. *Meat Sci.* 47: 301-310.
- Wen, J., S. M. McCarthy, F. M. J. Higgins, P. A. Morrissey, D. J. Buckley, and P. J. A. Sheehy. 1997b. Effect of dietary α -Tocoferyl acetate on the uptake and distribution of α -Tocopherol in turkey tissues and lipid stability. *Ir. Agr. Food Res.* 36: 65-74.
- Wilson, B. R., A. M. Pearson, and F. B. Shortland. 1976. Effect of total lipids and phospholipids on warmed-over flavour in red and white muscle from several species as measured by thiobarbituric acid analysis. *Ir. Agr. Food Res.* 24: 7-11.
- Wiseman, J., and F. Salvador. 1991. The influence of free fatty acid content and degree of saturation on the apparent metabolizable energy of fats fed to broiler chicks. *Br. Poult. Sci.* 30: 653-662.
- Yang, H. W., K. J. Hwang, H. C. Kwon, H. S. Kiml, K. W. Cho, and K. S. Oh. 1998. Detection of reactive oxygen species (ROS) and apoptosis in human fragmented embryos. *Hum. Repro.* 4: 998-1002.
- Yanishlieva, N. V., E. M. Marinova, M. H. Gordon, and V. G. Raneva. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipids systems. *Food Chem.* 64: 59-66.
- Zhang, W., S. Xiao, H. Samaraweera, E. L. Joo, and D. U. Ahn. 2010. Improving functional value of meat products. *Meat Sci.* 86: 15-31.

CAPÍTULO I. DIETARY OREGANO ESSENTIAL OIL AND VITAMIN E EFFECT ON THE LIPID OXIDATION STABILITY OF COOKED CHICKEN BREAST MEAT

Abstract

The antioxidant effect of oregano essential oil and vitamin E was evaluated in cooked meat. A total of 480 broilers were raised with a corn-soybean meal diet including either crude soybean oil (**CSB**) or acidulated soybean oil soapstock (**ASS**), each one supplemented with vitamin E at 10 and 100 mg (**VE-10 and VE-100**) or oregano essential oil at 100 mg kg⁻¹ (**OR-100**) of feed. At 42-days, broilers were processed and their breast meats were prepared into strip (1.5 × 10 cm) or patty. Fatty acid composition of the muscle was determined. For oxidation stability, both stripped and patty were cooked to an internal temperature 74 °C and malonaldehyde (**MDA**) contents of the cooked meats were assessed during 0, 3, 6 and 9 days of storage at 4 °C. The oxidative stability of meat lipids was estimated by content of (**MDA**) values. Results showed that feed consumption, weight gain and feed conversion were not affected by the dietary oils or antioxidants except the mortality in ASS with VE-10 treatments. The fatty acid composition of the meat was similar between two diets given the same antioxidant supplement. In CSB oil diet, the MDA values of VE-10 was the highest followed by OR-100 and VE-100 at 9 days of storage, whereas the value of OR-100 in ASS diet was the highest, followed by VE-10 and VE-100 during the 9 days storage. In conclusion, the dietary oils and antioxidant used can be included in broiler diets without negative effects on their productivity. The antioxidant effect of vitamin E was higher with higher supplementation level regardless of oil treatment, whereas the antioxidant effect of oregano essential oil was better in CSB than ASS.

Key words: oregano essential oil, chicken meat, lipid oxidation.

EFEECTO DEL ACEITE DE ORÉGANO Y VITAMINA E EN LA DIETA SOBRE LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE PECHUGA DE POLLO COCIDA

Resumen

El efecto antioxidante del aceite de orégano y vitamina E se evaluó en carne cocida. 480 pollos de un día de edad se alimentaron con una dieta maíz-pasta de soya utilizando aceite de soya crudo (ASC) o aceite de soya acidulado (ASA), cada una suplementada con vitamina E 10 y 100 mg (VE-10 y VE-100) o aceite esencial de orégano 100 mg kg⁻¹ (OR-100) de alimento. A los 42 días, los pollos fueron sacrificados, la pechuga se preparó en tiras (1.5 × 10 cm) o hamburguesas. La composición de ácidos grasos de la carne se determinó. Para las pruebas de estabilidad oxidativa, las tiras y las hamburguesas se cocieron hasta alcanzar una temperatura interna de 74 °C. La cantidad de malondialdehído (MDA) de la carne cocida se determinó durante los 0, 3, 6 y 9 días de almacenamiento a 4 °C. La estabilidad oxidativa de los lípidos de la carne fue estimada por el contenido de MDA. Los resultados indican que el consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia no fueron afectados por los aceites o antioxidantes, excepto la mortalidad con el ASA con el tratamiento VE-10. La composición de ácidos grasos de la carne fue similar entre las dos dietas con la misma cantidad de antioxidante suplementado. En la dieta con ASC, los valores de MDA con VE-10 fueron los más altos, seguidos por OR-100 y VE-100 a los 9 días de almacenada la carne, mientras que los valores del OR-100 con ASA fueron los más altos, seguidos por VE-10 y VE-100 durante 9 días de almacenada la carne. En conclusión, el aceite y antioxidante usado puede incluirse en la dieta de las aves sin causar efectos negativos en sus variables productivas. El efecto antioxidante de la vitamina E fue mayor como incrementó su nivel, el efecto antioxidante del aceite de orégano fue mejor en ASC que con el ASA.

Palabras clave: Aceite esencial de orégano, carne de pollo, oxidación lipídica.

1.1. Introduction

In poultry production fats are used as a source of energy and essential fatty acids. The two most common fats included in poultry diets are animal/vegetable blends and crude oils (Blanch *et al.*, 1996; Kessler *et al.*, 2009). The type of fat or oil included in the diet is based on their market price, availability, and energy value. Acidulated soybean oil soapstock (ASS) is one of the cheapest oil sources for poultry diets mainly due to a by-product from soybean oil refining. The by-product, although high in free fatty acids, has a similar fatty acid profile as the crude soybean oil and induces similar productive variables as crude soybean, coconut, and flaxseed oils (Blanch *et al.*, 1996; Kessler *et al.*, 2009).

It is well known that dietary fats affect both fatty acid composition and oxidation stability of broiler muscle. The addition of crude soybean oil in the diet increases the amount of unsaturated fatty acids in the meat, and accelerates lipids oxidation, mainly in cooked meat. However, the addition of antioxidants through feed may decrease the oxidative process (Narciso-Gaytán *et al.*, 2010a and b). Lipid oxidation of unsaturated fatty acids reduces the shelf-life of meat, nutritional value and organoleptic characteristics (Halliwell and Chirico, 1993), such as flavor, odor, and color (Ahn *et al.*, 1998), and the effect is greater in cooked meats (Morrissey *et al.*, 1998). Therefore, it is worth evaluating if ASS and CSB affect broiler production and oxidation stability of the meat lipids due to the higher content in impurity and free fatty acids in ASS, while having similar fatty acid composition.

The lipid oxidation development in the meat can be prevented by providing an active antioxidant in the diet (Buckley *et al.*, 1995). Vitamin E is a natural antioxidant commonly used in poultry diets. Alpha-tocopherol is the most active antioxidant form of vitamin E and deposited in muscle tissues where it protects the cell membrane integrity by inhibiting the oxidation of phospholipids (Wen *et al.*, 1997; Higgins *et al.*, 1998). A downside of vitamin E is its high cost, which increases the broiler production cost (Cortinas *et al.*, 2005). Interestingly, there are natural sources of crude antioxidants cheap. Oregano essential oil contains high amounts of thymol and carvacrol (Arcila *et al.*, 2004; Castillo *et al.*, 2007), chemical compounds that inhibit free radicals thereby lipid oxidation by giving off hydrogen atoms (Montoya *et al.*, 2007), inhibiting the development of the lipid oxidation (Rocha *et al.*, 2007). In poultry, supplementation of oregano essential oils in the diet has been used successfully (Botsoglou *et al.*, 2002a, b).

Subsequently, research is required to understand its effects on meat from broilers receiving different dietary oil types supplementation with oregano. The objective of this research was to evaluate the effect of dietary supplementation of oregano essential oil and vitamin E on the shelf-life of cooked chicken meat, influenced by ASS and CSB oils.

1.2. Materials and methods

The present experiment was carried out at the Poultry Farm at Colegio de Postgraduados. Four hundred and eighty broilers were raised, 1 to 42 days of age. Broilers were fed with a basal corn-soybean meal diet (Table 5) with CSB or ASS. Each diet was supplemented to either oregano essential oil (30.7 % of thymol and 9.7 % of carvacrol) 100 mg kg⁻¹ (OR-100) or vitamin E with 10 or 100 mg kg⁻¹ (VE-10 and VE-100, respectively), feed and water were provided *ad libitum*. The broiler productive variables were recorded weekly.

Slaughtering and Cooking

At 42 days of age, broilers were sacrificed by sectioning the jugular vein and carotid artery. Breast meat samples were collected and processed as follows: the left portion of the meat was cut into strips, 1.5 x 10 cm, and the right portion was ground and formed into patties. The meat strips and patties were cooked on an electric grill (Oster™, Fujian, China), to an internal temperature of 74 °C. The internal temperature of the product was monitored using wire thermocouples adapted to a digital thermometer (Model HH501BT, Omega Engineering Inc., Stamford, CT). After cooking, the meat samples were allowed to cool at room temperature for 25 min, placed on Styrofoam trays, covered with packaging film, and stored at 4 °C for 9 days.

Fatty Acid Analysis

The lipids of the muscle tissues were extracted using chloroform:methanol 2:1. Ten g of breast muscle were added to 12 mL of chloroform:methanol and mixed during 10 min three times (Maxi Mix, Model M37615) it used the principle of Folch *et al.* (1957; Cooper *et al.*, 2004), it was made to obtain a good chromatogram. Afterwards, 1 mL of tridecanoic acid was added (C13:0, Sigma, Aldrich México) as internal standard to the mixture obtained (O'Fallon *et al.* 2007). The samples were filtered (Whatman filter No. 541, II, United States) and were added to 200 µL of NaCl at 0.9% for each mL of mixture obtained. One mL fat (sediment) was

dehydrated at 55°C in vacuum and N₂ flushing; 1 mL of hexane was added at the end, to obtain the fatty acids. The mixture was added with 0.1 mL of saturated potassium hydroxide for Methylation (12 g of KOH in 100 mL of methanol) and centrifuged during 5 min at 3000 rpm (D-78532, Hettich EBA 21 Tuttlingent, Germany). The supernatant was deposited in a vial and subjected to analysis of chromatography.

A gas chromatography (Hewlett Packard, Model 6890, MN, USA) equipped with a flame ionizing detector and column of 100 m long and 200 µm in diameter (SPTM-2560 Barcelona, Spain) was used. The injection port temperature was 260° C and the initial oven temperature was 60 °C and increase 2°C per minute up to 125°C. Helium gas was used as a carrier (10 cm/s). One µL of sample was injected at Split mode 100:1. The fatty acids were identified using commercial standards (Supelco 37 FAME, Mix, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO).

TBARS Analysis

The lipid oxidation of samples was estimated using the procedure established by Rhee (1978). 1) 0.02 M 2-thiobarbituric acid (2-TBA, J. T. Baker) by adding 2-TBA (0.288 g) to 100 mL of distilled water, and 2) 0.5% propylgalato (PG, Sigma) in 0.5% disodium salt dehydrate crystal (EDTA, J. T. Baker, 8993) by adding PG (5g) and EDTA (5 g) to 1000 mL of distilled water. Both 30 g of meat and 45 mL of hot distilled water (50 °C) were added to 30 mL of PG-EDTA solution and blended for 2 min. Thirty g of the sample were placed into a Kjeldahl flask plus 77.5 mL of distilled water, 2.5 mL of hydrochloric acid and 6 chips of stone coal; the sample was distilled and collected 50 mL. Out of the 50 mL, 5 mL were added with 5 mL of 2-TBA solution and the mixture was boiled during 35 min, along with a blank (2-TBA – distilled water). After boiling, the samples were allowed to cool at room temperature and the absorbance was read at 532 nm using a spectrophotometer (Model 110 RS, Unico, NJ, USA). Spectrophotometer values of MDA were adjusted by a correction factor (7.8) to calculate milligrams per kilogram of muscle (Tarladgis *et al.*, 1960).

Statistical analysis

The broiler response variables of the broilers: feed consumption, weight gain, feed conversion rate, mortality, and muscle fatty acid composition were analyzed using a completely randomized design with factorial arrangement 2 × 3, factors A (oil type), and B (antioxidant) were used. Data

of MDA values were analyzed using a $2 \times 3 \times 4$ factorial arrangement, where factor C (storage day) was analyzed using MIXED procedure (SAS, 2000). Mean separation and comparison were conducted using the Tukey's test. The mortality data were adjusted using the arc-sine transformation.

1.3. Results and discussion

Broiler Productivity

The broilers (feed consumption, gained weight, and feed conversion rate) were not affected by oil types and antioxidant sources (Table 6). These results confirmed that oregano essential oil can be fed to broilers without detrimental effects on their productivity, as the case of other studies conducted with different levels from 50 to 1,000 mg per kg of feed (Botsoglou *et al.*, 2002b), 200 mg (Hernández *et al.*, 2004), and 500 and 1000 mg (Cross *et al.*, 2007; Marcincak *et al.*, 2008). Regarding the CSB and ASS oils, this research shows that both types of oils can be included in poultry diets as a source of fatty acids and energy without negative effect on productivity, as previously reports (Sibbald and Kramer, 1977; Wiseman and Salvador, 1991; Kessler *et al.*, 2009). But, care must be taken when the ASS is included with as low supplement levels of antioxidants. A higher mortality percentage can be observed as in the case of the ASS with VE-10 treatment. It is likely that the higher amount of free fatty acids and impurities in the ASS oil impaired the vitamin E absorption and antioxidant activity, as previous report (Baião and Lara, 2005). Alpha-tocopherol is deposited in cell membranes where it inactivates free radical and protects living cells (Lozoncsy *et al.*, 1996). It is supposed that some antioxidant compounds in oregano essential oil such as thymol and carvacrol also occur in cell membranes where they accomplish their antioxidant activity (Yanishlieva *et al.*, 1999; Montoya *et al.*, 2007).

Fatty Acid Composition of the Meat

Table 7 shows the results of the fatty acid composition of chicken breast muscle. The fatty acid profile of the breast muscle was not affected by the dietary types of soybean oils. However, the amount of linolenic fatty acid (C18:3) was higher ($P \leq 0.05$) in the breast muscle of broilers fed with CSB oil diet supplemented with OR-100 oil than in the ASS with VE-10. The fatty acid profile of meat was not modified by effect of oil type used (CSB or ASS). This is because the

ASS is obtained from the CSB, nevertheless they showed some differences (Baião and Lara, 2005). The higher linolenic fatty acid in the muscle of birds feed CSB with OR-100 (2.99%) than the ASS with VE-10 (2.08%) is explained by the higher content in the CSB diet (9.7%) than the ASS (2.6%) (fatty acid profile of oil was obtained by the control analysis, data not shown). Additionally, essential oils such as oregano have shown to assist and improve the digestive process (Lee *et al.*, 2004), increasing the absorption of some nutrients (Hernández *et al.*, 2004), a situation that may explain why the muscle from chicken fed the CSB with OR-100 treatment had higher amount of linolenic fatty acid; an effect not observed in the breast muscle of broilers fed with VE-10 and VE-100 diets.

Lipid Oxidation Stability of Cooked Meat Strips

Figure 6 shows the MDA values in cooked meat strips during storage. The results showed an interaction between the VE-100 and OR-100 treatments from 6 to 9 day. During 9 days of storage, MDA continuously increased except the OR-100 of CSB diet at 9 days (Figure 6A). In comparison, OR-100 showed an intermediate MDA value between the VE-10 (the highest) and the VE-100 (the lowest) in CSB diet except for 9 days (Figure 6A), whereas the OR-100 marked the highest MDA value than VE-10 (the second) and VE-100 (the third) over the entire storage days with ASS oil diet (Figure 6B).

Lipid Oxidation Stability of Cooked Meat Patties

Figure 7 shows the MDA values in cooked meat patties during storage. Two interactions were detected between the VE-100 and OR-100 from 0 to 3 day (Figure 7A) and between VE-10 and VE-100 from 3 to 6 day (Figure 7B). Overall trend of MDA value in breast patty (Figure 7) was as similar as the one in breast strip (Figure 6). During 9 days of storage, VE-10 rapidly increased and recorded the highest MDA value followed by the OR-100 and VE-100 in CSB diet (Figure 7A). Like the case of breast strip, OR-100 showed the highest value than VE-10 and VE-100 over the whole storage days (Figure 7B).

The results of interaction in MDA values indicated that the oxidation stability in chicken meat is collaboratively influenced by various factors such as source of dietary oil, types and amount of antioxidant, and storage time. Also, it was observed that the meat from broilers fed with ASS was more susceptible to develop lipid oxidation at nine days than the one from the CSB oil,

regardless of the type of cooking method. These results are in agreement with those reported by Anjum *et al.* (2004) who found that oxidized soybean oil caused higher accumulation of MDA values in meat than CSB oil. In the present study, the ASS contained a high peroxide value of 10 meq O₂ kg⁻¹ (obtain by the control analysis, data no shown), which caused a higher accumulation of MDA in the meat than the CSB oil meat samples. In previous studies, the ASS oil did not affect the MDA values due to its low content of peroxide (1 and 2.83 meq O₂ kg⁻¹; Jensen *et al.*, 1997 and Racanicci *et al.*, 2008, respectively). Interestingly, the effect of antioxidant by oregano essential oil was reduced when ASS was added compared to CBS. Oxidized dietary oils reduce the antioxidant effect due to higher antioxidant expenditure (Baião and Lara, 2005) and presence of high amounts of peroxides (Racanicci *et al.*, 2008). Thymol and carvacrol, the antioxidant active compounds in oregano essential oil, respond to the lipid environment conditions in which they are present. The ASS oil if no fresh reduced their antioxidant activity, perhaps by negatively affecting the hydrogen release process from their phenolic ring (Yanishlieva *et al.*, 1999), situation not observed in CSB oil treatment. Crude soybean oil peroxide content is very low (0.5 meq kg⁻¹; Miyazawa *et al.*, 1994).

The antioxidant effect of oregano essential oil depends mainly on its content of thymol and carvacrol (Milić *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2004; Arcila *et al.*, 2004; Montoya *et al.*, 2007). The amounts of thymol and carvacrol found in the oregano essential oil used in the present study were 30.7 and 9.3 mg per 100 mg of oregano essential oil, respectively (according to our results obtained at our laboratory, data no shown). The inclusion of oregano essential oil in broiler diets protects the meat from lipid oxidation and increases shelf-life by the inactivation of free radicals (Botsoglou *et al.*, 2002 a and b; Govaris *et al.*, 2005; Montoya *et al.*, 2007; Luna *et al.*, 2010).

The activity of antioxidants decreased by the storage of the meat, then MDA values increased and the cooking of the meat accelerate the oxidative process, increased free radicals and secondary products of the oxidation (Morrissey *et al.*, 1998; Yanishlieva *et al.*, 1999; Luna *et al.*, 2010).

1.4. Conclusion

The crude soybean oil and soybean oil soapstock can be used as an energy and fatty acid source in broiler feed with oregano essential oil and vitamin E with no negative effect on broiler production and product quality.

Acknowledgments

The authors would like to thank the *Linea de Investigación Prioritaria en Agregación de Valor (LPI-12)* of Colegio de Postgraduados for the financial support of the present study.

1.5. References

- Ahn, D. U., J. L. Sell, C. Jo, X. Chen, C. Wu, and J. I. Lee. 1998. Effects of dietary vitamin E supplementation on lipid oxidation and volatiles content of irradiated, cooked turkey meat patties with different packaging. *Poult. Sci.* 77: 912-920.
- Anjum, M. I., I. H. Mirza, A. G. Khan, and A. Azim. 2004. Effect of fresh versus oxidized soybean oil on growth performance, organs weights and meat quality of broiler chicks. *Pakistan Vet. J.* 24: 173-178.
- Arcila, L., C. G. Piña, L. S. Lecomte, and E. G. Mejía. 2004. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Arch. Latinoam. Nutr.* 54: 100-111.
- Baião, N. C., and L. J. C. Lara. 2005. Oil and fat in broiler nutrition. *Br. Poult. Sci.* 7:129-141.
- Blanch, A., A. C. Barroeta, M. D. Baucells, X. Serrano, and F. Puchal. 1996. Utilization of different fats and oils by adult chickens as a source of energy, lipid and fatty acids. *Anim. Feed Sci. Technol.* 61: 335-342.
- Botsoglou, N. A., E. Christaki, D. J. Fletouris, P. Florou-Paneri, and A. B. Spais. 2002a. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Sci.* 62: 259-265.
- Botsoglou, N. A., P. Florou-Paneri, E. Christaki, D. J. Fletouris, and A. B. Spais. 2002b. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *Br. Poult. Sci.* 43: 223-230.
- Buckley, D. J., P. A. Morrissey, and J. I. Gray. 1995. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *J. Anim. Sci.* 73: 3122-3130.
- Castillo, H. G., J. A. F. García, and M. E. Estarrón. 2007. Extraction method that enriches phenolic content in oregano (*Lippia graveolens*) essential oil. *J. Food Process Eng.* 30: 661-669.
- Cooper, S. L., L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, K. G. Hallett, M. Enser, and J. D. Wood. 2004. Manipulation of the n-3 polyunsaturated fatty acid content of muscle and adipose tissue in lambs. *J. Anim. Sci.* 82: 1461-1470.

- Cortinas, L., A. Barroeta, C. Villaverde, J. Galobart, F. Guardiola, and M. D. Baucells. 2005. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. *Poult. Sci.* 84: 48-55.
- Cross, D. E., R. M. McDevitt, K. Hillman, and T. Acamovic. 2007. The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *Br. Poult. Sci.* 48: 496-506.
- Folch, J., M. Less, and G. M. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.
- Govaris, A., E. Botsoglou, P. F. Paneri, A. Moulas, and G. Papageorgiou. 2005. Dietary supplementation of oregano essential oil and α -tocopheryl acetate on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during storage. *Int. J. Poult. Sci.* 4: 969-975.
- Halliwel, B., and S. Chirico. 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am. J. Clin. Nutr.* 57: 715-724.
- Hernández, F., J. Madrid, V. García, J. Orengo, and M. D. Megías. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult. Sci.* 83: 169-174.
- Higgins, F. M., J. P. Kerry, D. J. Buckley, and P. A. Morrissey. 1998. Effect of dietary α -tocopheryl acetate supplementation on α -tocopherol distribution in raw turkey muscles and its effect on the storage stability of cooked turkey meat. *Meat Sci.* 50: 373-383.
- Jensen, C., R. Engberg, K. Jakobsen, L. H. Skibsted, and G. Bertelsen. 1997. Influence of the oxidative quality of dietary oil on broiler meat storage stability. *Meat Sci.* 47: 211-222.
- Kessler, A. M., D. S. Lubisco, M. M. Vieira, A. M. L. Ribeiro, and A. M. Penz. 2009. Fatty-acid composition of free-choice starter broiler diets. *Br. Poult. Sci.* 11: 31-38.
- Lee, K. W., H. Everts, and A. C. Beynen. 2004. Essential oils in broiler nutrition. *Int. J. Poult. Sci.* 3: 738-752.
- Losonczy, K. G., T. B. Harris, and R. J. Havlik. 1996. Vitamin E and vitamin C supplement use and risk of all cause and coronary heart disease mortality in older persons: the established populations for epidemiologic studies of the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.* 64: 190-196.
- Luna, A., M. Labaque C., J. Zygadlo A., and R. H. Marin. 2010. Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. *Poult. Sci.* 89: 366-370.
- Marcincak, S., R. Cabadaj, P. Popelka, and L. Soltysova. 2008. Antioxidative effect of oregano supplemented to broilers on oxidative stability of poultry meat. *Slov. Vet. Res.* 45: 61-66.

- Milić, B. L., M. D. Sonja, M. Jasna, B. Čanadanovic. 1998. Antioxidative activity of phenolic compounds on the metal-ion breakdown of lipid peroxidation system. *Food Chem.* 61: 443-447.
- Miyazawa, T., K. Fujimoto, M. Kinoshita, and R. Usuki. 1994. Rapid estimation of peroxide content of soybean oil by measuring thermoluminescence. *J. Ame. Oil Chem. Society.* 71: 343-345.
- Montoya, G., J. Londoño, L. Yassin, G. Vásquez, M. Rojas, and R. Ramírez. 2007. Monoterpenos aromáticos timol y carvacrol: aproximaciones de sus posibles papeles en procesos claves de la patología cardiovascular. *Sci. Technica* 33: 27-32.
- Morrissey, P. A., P. J. A. Sheehy, K. Galvin, J. P. Kerry, and D. J. Buckley. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Sci.* 49: 73-86.
- Narciso-Gaytán, C., D. Shin, A. R. Sams, C. A. Bailey, R. K. Miller, S. B. Smith, O. R. Leyva-Ovalle, and M. X. Sánchez-Plata. 2010a. Soybean, palm kernel, and animal-vegetable oils and vitamin E supplementation effect on lipid oxidation stability of sous vide chicken meat. *Poult. Sci.* 89: 721-728.
- Narciso-Gaytán, C., D. Shin, A. R. Sams, J. T. Keeton, R. K. Miller, S. B. Smith, and M. X. Sánchez-Plata. 2010b. Dietary lipid source and vitamin E effect on lipid oxidation stability of refrigerated fresh and cooked chicken meat. *Poult. Sci.* 89: 2726-2734.
- O'Fallon, J. V., J. R. Busboom, M. L. Nelson, and C. T. Gaskins. 2007. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. *J. Anim. Sci.* 85: 1511-1521.
- Racanicci, A. M. C., J. F. M. Menten, M. A. B. Regitano-d'Arce, E. A. F. S. Torres, L. M. Pino, and A. A. Pedroso. 2008. Dietary oxidized poultry offal fat: broiler performance and oxidative stability of thigh meat during chilled storage. *Br. Poult. Sci.* 10: 29-35.
- Rhee, K. S. 1978. Minimization of further lipid peroxidation in the distillation of 2-thiobarbituric acid test of fish and meat. *J. Food Sci.* 43: 1776-1778.
- Rocha, G. N, E. I. Gallegos, J. A. L. Gonzáles, R. F. G. Ramos, M. M. Rodriguez, M. E. C. Reynoso, R. U. Rocha, and R. M. Roque. 2007. Antioxidant effect of oregano (*Lippia berlandieri* v. Shauer) esencial oil and mother liquors. *Food Chem.* 102: 330-335.
- SAS Institute. 2000. SAS/STAT Guide for Personal Computers. 8th Ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.

- Sibbald, I. R., and J. K. G. Kramer. 1977. The true metabolizable energy values of fats and fat mixtures. *Poult. Sci.* 56: 2079-2086.
- Tarladgis, B. G., B. M. Watts, and M. T. Younathan. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 37: 44-48.
- Wen, J., P. A. Morrissey, D. J. Buckle, and P. J. A. Sheehy. 1997. Supranutritional Vitamin E supplementation in pigs: influence on subcellular deposition of α -Tocopherol and on oxidative stability by conventional and derivative spectrophotometry. *Meat Sci.* 47: 301-310.
- Wiseman, J., and F. Salvador. 1991. The influence of free fatty acid content and degree of saturation on the apparent metabolizable energy of fats fed to broiler chicks. *Br. Poult. Sci.* 30: 653-662.
- Yanishlieva, N. V., E. M. Marinova, M. H. Gordon, and V. G. Raneva. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chem.* 64: 59-66.

Table 5. Chemical composition (%) of crude soybean oil and acidulated soybean oil soapstock diets.

Ingredient	Starter		Grower-Finisher	
	CSB ¹	ASS ²	CSB	ASS
Corn	65.61	65.55	71.79	71.36
Soybean meal	29.22	29.10	22.11	22.19
CSB	1.00	0.00	1.86	0.00
ASS	0.00	1.17	0.00	2.21
Calcium bicarbonate (38%)	1.64	1.64	1.52	1.51
Dicalcium phosphate (18/21)	1.49	1.49	1.30	1.30
Salt	0.30	0.30	0.30	0.30
Mineral premix ³	0.06	0.06	0.06	0.06
Vitamin premix ⁴	0.05	0.05	0.05	0.05
DL-Methionine	0.30	0.30	0.18	0.18
L-lysine HCl	0.29	0.30	0.19	0.18
Xantophylls ⁵	0.00	0.00	0.60	0.60
Cocciostate	0.05	0.05	0.05	0.05
<i>Nutrient composition</i>				
Metabolizable energy (Mcal/kg)	3.00	3.00	3.10	3.10
CP	20.06	20.00	17.00	17.00
Calcium	1.00	1.00	0.90	0.90
Linoleic acid	1.90	1.72	2.46	2.13
Lysine	1.30	1.30	1.00	1.00
Methionine + Cystine	0.95	0.95	0.75	0.75
Available phosphorous	0.45	0.45	0.45	0.45
Hystidine	0.51	0.51	0.43	0.43
Tryptophane	0.27	0.27	0.23	0.23
Threonine	0.84	0.84	0.73	0.73
Arginine	1.31	1.31	1.08	1.08

¹CSB = crude soybean oil.

²ASS = acidulated soybean oil soapstock.

³Amount in mg per kg of feed: Se 0.27, I 2, Cu 8, Fe 50, Zn 80, Mn 80, and Co 0.2 (Trouw Nutrition, Nuevo León, México).

⁴Amount per kg of feed: A, 12000 UI, D₃, 3100 UI₃, K₃, 5 mg, thiamine, 2 mg, riboflavin, 12 mg, pantothenic acid, 21 mg, pyridoxine, 2.6 mg, folic acid, 1.5 mg, B₁₂, 0.018 mg, and biotin, 0.15 mg (Ajinomoto, DF, México).

⁵Amount per kg of feed: yellow pigment 15 g (Alcos, DF, México).

Table 6. Productive variables of broilers fed with CSB and ASS in three different antioxidant supplements.

Treatment	Feed consumption (kg)	Weight gain (kg)	Feed conversion rate	Mortality (%)
CSB ¹				
VE-10 ²	4.33	2.33	1.86	2.50ab
VE-100 ³	4.45	2.34	1.90	1.25b
OR-100 ⁴	4.39	2.38	1.84	5.00ab
ASS ⁵				
VE-10	4.20	2.38	1.76	10.00a
VE-100	4.25	2.29	1.85	3.75ab
OR-100	4.26	2.35	1.81	2.50ab
Pr > F ⁶	0.26	0.71	0.24	0.04
SEM ⁷	46.98	17.09	0.02	0.10

^{a-b}Means with different literals within columns are statistically different ($P \leq 0.05$).

¹ASB= crude soybean oil.

²VE-10= vitamin E 10 mg kg⁻¹ of feed.

³VE-100= vitamin E 100 mg kg⁻¹ of feed.

⁴OR-100= oregano essential oil 100 mg kg⁻¹ of feed.

⁵ASS = acidulated soybean oil soapstock.

⁶Pr > F. Probability.

⁷SEM= standard error of the mean.

Table 7. Fatty acid composition (% of total fat) of broiler breast muscle receiving CSB and ASS in three different antioxidant supplements.

Fatty acid	CSB ¹				ASS ²			
	VE-10 ³	VE-100 ⁴	OR-100 ⁵	SEM ⁶	VE-10	VE-100	OR-100	SEM
C14:0	1.28	1.31	1.36	0.04	1.11	1.21	1.26	0.05
C16:0	31.07	29.25	29.09	0.48	30.43	29.73	30.83	0.40
C16:1	7.64	7.55	7.66	0.34	7.01	7.64	6.46	0.42
C18:0	5.58	5.40	5.89	0.18	6.05	5.62	6.19	0.28
C18:1	28.32	29.97	30.36	0.44	30.26	30.05	28.44	0.44
C18:2	21.67	21.83	20.36	0.36	19.95	20.75	15.74	1.49
C18:3	2.16b	2.07b	2.99a	0.15	2.08b	2.47ab	2.47ab	0.09
C20:4	1.26	1.25	1.31	0.12	1.68	1.14	2.46	0.29
SFA ⁷	38.59	36.63	37.23	0.37	38.19	37.21	39.05	0.42
MUFA ⁸	35.96	37.52	38.02	0.40	37.27	37.69	34.90	0.65
PUFA ⁹	25.10	25.16	24.66	0.26	23.72	24.36	20.67	1.49
PUFA:SFA	0.65	0.69	0.66	0.01	0.62	0.65	0.52	0.04

¹CSB =crude soybean oil.

²ASS= acidulated soybean oil soapstock.

³VE-10= vitamin E 10 mg kg⁻¹ of feed.

⁴VE-100= vitamin E 100 mg kg⁻¹ of feed.

⁵OR-100= oregano essential oil 100 mg kg⁻¹ of feed.

³SEM= standard error of the mean.

⁴SFA= saturated fatty acids.

⁵MUFA= monounsaturated fatty acids.

⁶PUFA= polyunsaturated fatty acids.

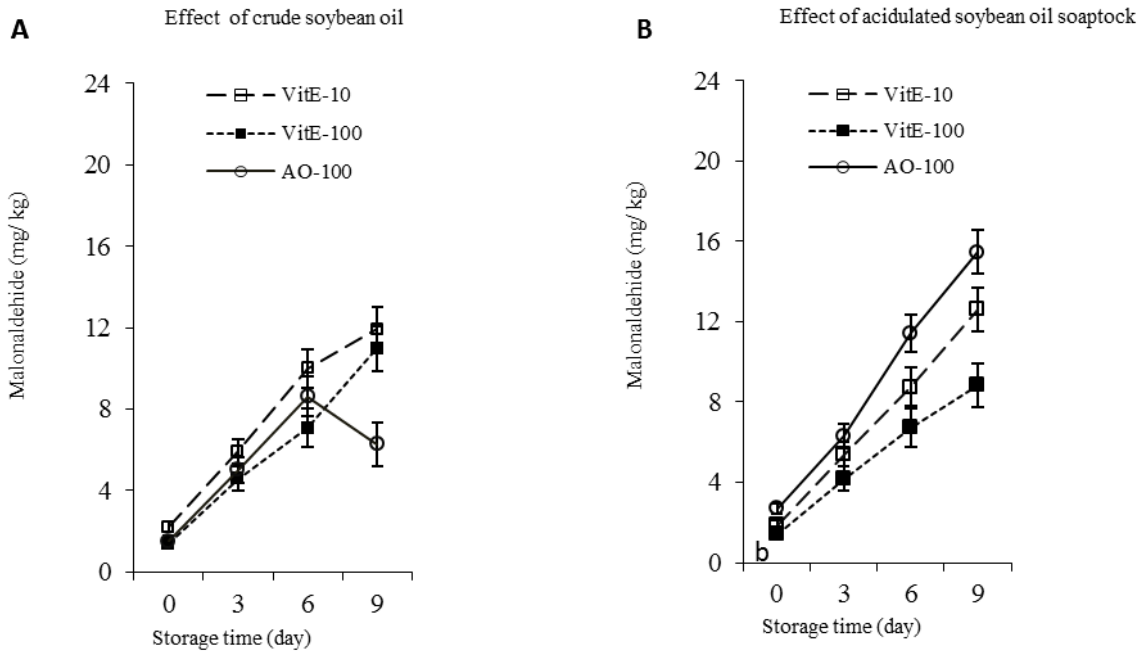


Figure 6. Malonaldehyde values of cooked breast meat strips receiving CSB and ASS in three different antioxidant supplements. Effect of dietary oil type, A): crude soybean oil, B): acidulated soybean oil soapstock, and antioxidant: VE-10 and VE-100 (10 and 100 mg kg⁻¹) and OR-100 (100 mg kg⁻¹) of feed.

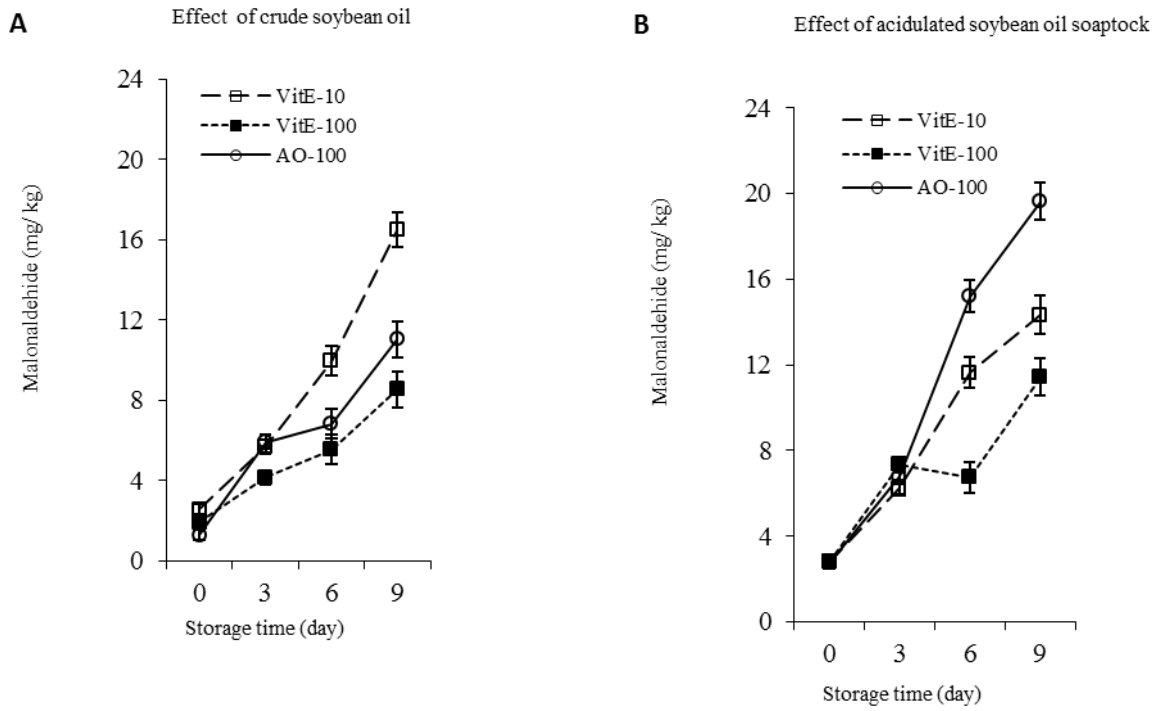


Figure 7. Malonaldehyde values of cooked breast meat patties receiving CSB and ASS in three different antioxidant supplements. Effect of dietary oil type, A): crude soybean oil, B): acidulated soybean oil soapstock, and antioxidant: VE-10 and VE-100 (10 and 100 mg kg⁻¹) and OR-100 (100 mg kg⁻¹) of feed.

CAPITULO II. EFECTO DE ANTIOXIDANTES ADICIONADOS A LA DIETA Y SOBRE LA CARNE EN LA ESTABILIDAD OXIDATIVA DE CARNE DE POLLO COCIDA

Resumen

La oxidación de los ácidos grasos en carne afecta negativamente el valor nutrimental, calidad y vida de anaquel de la misma. En la presente investigación se evaluó la estabilidad oxidativa de carne de pollo precocida, de pollo suplementada con antioxidantes en dietas con vitamina E (10 y 100 mg kg⁻¹ de alimento; VE10 y VE100, respectivamente) y aceite de orégano (10 mg kg⁻¹ de alimento; AO100) y antioxidantes adicionados en carne con MIEL de abeja (3%) y BHT (0.02%). La miel y BHT fueron adicionados a carne proveniente de pollos alimentados con 10 mg de vitamina E kg⁻¹ de alimento. Los pollos se alimentaron con una dieta basal de maíz-pasta de soya y suministro de agua *ad libitum* durante 6 semanas. La carne de la pechuga se molió y se coció en una parrilla eléctrica hasta una temperatura interna de 74 °C, se enfrió a temperatura ambiente y cubrió con una película plástica permeable al oxígeno y se almacenó en refrigeración por 9 días (4 °C) y en congelación por 45 días (-21 °C). La prueba de TBARS (2-ácido tiobarbitúrico) se utilizó para cuantificar el malondialdehído (MDA) presente en la carne. Se utilizó un diseño Completamente al Azar con 12 repeticiones. La comparación de medias de mínimos cuadrados se realizó a través de contrastes ortogonales. Los resultados mostraron que la carne del tratamiento VE10 presentó cantidades mayores de MDA ($P \leq 0.001$) que los otros tratamientos a partir del día 3 de almacenamiento. No se observaron diferencias en valores de MDA entre tratamientos de antioxidantes suplementados en dieta y los adicionados en carne. La carne adicionada con miel presentó valores de MDA menores que la carne del tratamiento con BHT ($P \leq 0.05$) durante los días 6 y 9 de almacenamiento. La carne del tratamiento VE100 presentó menor cantidad de MDA que la del tratamiento AO100 ($P \leq 0.05$) a partir del día 3 de almacenamiento. En conclusión, la suplementación de vitamina E 10 mg kg⁻¹ a la dieta resulta en un desarrollo alto de la oxidación lipídica de la carne. El uso de antioxidantes suplementados a la dieta o adicionados a la carne tiene un efecto similar sobre la estabilidad oxidativa de la carne. La adición de miel a la carne fue más efectiva para disminuir el desarrollo de la oxidación lipídica comparado con el antioxidante sintético BHT. Finalmente, la suplementación de 100 mg

de vitamina E por kg^{-1} de alimento presentó un mayor efecto antioxidante que el aceite de orégano al mismo nivel de inclusión.

Palabras clave: miel de abeja, fenoles, flavonoides, DPPH, malondialdehído, aceite de orégano.

EFFECT OF DIETARY SUPPLEMENTED AND MEAT-ADDED ANTIOXIDANTS ON LIPID OXIDATION STABILITY OF COOKED CHICKEN MEAT

Abstract

The oxidation of fatty acids decreases the quality of meat and affects its nutritional properties and shelf-life. To reduce the process, we evaluated the oxidative stability of meat from broilers fed with vitamin E (10 and 100 mg; VE10, VE100) and oregano oil (100 mg; AO100) per kg⁻¹ of feed and meat added with honey bee (3%, VE10+MIEL) and BHT (0.02%; VE10+HBT); honey and BHT were added to meat from birds fed 10 mg vitamin E kg⁻¹ of feed. The broilers were fed basal diet of corn-soybean meal; the breast meat was ground and cooked in an electric grill until it reaches 74 °C internal temperature. It was cooled to room temperature and covered with plastic film permeable to oxygen to be storage under refrigeration for 9 days (4 °C), and frozen for 45 days (-21 °C). The TBARS test (2-thiobarbituric acid) was used to measured malondialdehyde (MDA) in the meat. Data were analyzed using a completely randomized design, each treatment had 12 replication and LS means were compared using orthogonal contrasts. The results showed that treatment of meat VE10 had higher amounts of MDA ($P \leq 0.001$). No differences in the values of MDA by adding antioxidants to the food of birds or meat. The meat has added with honey MDA values lower than BHT ($P \leq 0.05$). Meat VE100 treatment showed lower MDA levels than the AO100 ($P \leq 0.05$). In conclusion, supplementation of vitamin E 10 mg kg⁻¹ to the diet resulted in a high development of lipid oxidation. The use of antioxidants supplements to the diet or added to the meat had a similar effect on the oxidative stability of meat. The addition of honey to the meat was more effective at reducing the development of lipid oxidation compared to the synthetic antioxidant BHT. Finally, supplement of vitamin E to the diet had higher antioxidant effect compared with meat from broilers fed oregano oil at the same level of inclusion.

Keywords: honey, phenols, flavonoids, DPPH, malondialdehyde, oregano oil.

1.1. Introducción

La oxidación de los ácidos grasos reduce la calidad de los productos cárnicos, afecta su olor, color y textura. En carne molida, el daño es mayor debido al contacto de ésta con el oxígeno y la luz (Mitsumoto *et al.*, 1993). Para mantener su calidad y retrasar el proceso oxidativo, la carne se adiciona con antioxidantes (Mandal *et al.*, 2009; Kong *et al.*, 2010).

Los antioxidantes protegen a los ácidos grasos de la oxidación, el butil hidroxitolueno (BHT), butil hidroxianisol (BHA) o sus combinaciones son utilizadas a un nivel máximo de 0.02% (Shahidi, 2000; Reische *et al.*, 2002). Sin embargo, estos compuestos estimulan el crecimiento de células cancerígenas en el estómago, hígado y sistema reproductor de los animales (Ito *et al.*, 1983; Masui *et al.*, 1986; Conacher *et al.*, 1986; Niki *et al.*, 1991), situación que podría afectar a los consumidores y en algunos países europeos, en Canadá y Japón, se ha suspendido su uso en los alimentos (Shahidi, 2000).

En la actualidad, los consumidores prefieren alimentos adicionados con aditivos naturales, ya que son inocuos, mejoran la capacidad antioxidante del organismo y su adición a los alimentos no requiere pruebas de seguridad (Borek, 2004; Fasseas *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2010). Los antioxidantes naturales se obtienen de las plantas, sus compuestos principales son: flavonoides, compuestos fenólicos, β -caroteno, β -mirceno, α -pineno, γ -terpineno, timol y carvacrol (Lee *et al.*, 2004; Abu-Lafi *et al.*, 2008; Figiel *et al.*, 2010). Sin embargo, son más caros y su efecto antioxidante es menor comparados con los productos sintéticos (Reische *et al.*, 2002; Fasseas *et al.*, 2007), por esto, se recomienda adicionarlos de 200 a 1000 mg por kg de producto terminado (Nguyen *et al.*, 1994).

La vitamina E y el aceite de orégano son antioxidantes naturales, que al incorporarse a la dieta y consumirse por el ave se acumulan en las membranas celulares de su cuerpo para proteger a los ácidos grasos insaturados de la oxidación (Wood y Enser, 1997; Wen *et al.*, 1997; Botsoglou *et al.*, 2002). Sin embargo, la carne de pollo es rica en ácidos grasos insaturados y contiene pocos antioxidantes, por lo tanto, se debe aumentar la cantidad de antioxidantes en el alimento (NRC, 1994; Botsoglou *et al.*, 2002; Cortinas *et al.*, 2005; Fasseas *et al.*, 2007). Este manejo nutricional incrementa el costo del alimento y no siempre puede implementarse. Una alternativa para controlar el proceso oxidativo es aplicar los antioxidantes sobre la carne (Branen, 1975; Fasseas *et al.*, 2007).

La miel de abeja es una sustancia compleja que tiene más de 186 compuestos (Maghraby y Hassan, 2005), contiene diferentes antioxidantes naturales, como; α -tocoferol, ácido ascórbico, compuestos fenólicos, flavonoides, así como enzimas con actividad antioxidante; glucosa oxidasa, catalasa y peroxidasa (Gheldof y Engeseth, 2002; Blasa *et al.*, 2006). La miel tiene actividad antioxidante similar a la de la vitamina E en condiciones *in vitro* (Nagai *et al.*, 2006). Sin embargo, su composición química varía por su origen. En carne se puede adicionar hasta el 20% de miel para disminuir la oxidación de las grasas, pero esta cantidad altera su sabor (Mckibben y Engeseth, 2002), la adición de 5% es suficiente para disminuir la oxidación de la carne (Antony *et al.*, 2000; Mckibben y Engeseth, 2002; Johnston *et al.*, 2005).

Los antioxidantes deben controlar la oxidación lipídica al adicionarse en la dieta de las aves o sobre la carne, cada antioxidante tiene un nivel de adición diferente de acuerdo a su estructura química, vía de administración y naturaleza (Nguyen *et al.*, 1994; Reische *et al.*, 2002). Pero existe poca información sobre la comparación entre los métodos de aplicación, por ello, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto antioxidante de la vitamina E y del aceite de orégano suplementado en la dieta, así como de la miel de abeja y BHT adicionados en carne, sobre la estabilidad oxidativa de carne de pollo cocida refrigerada y congelada.

1.2. Materiales y métodos

Obtención y procesamiento de la carne

Se utilizó carne de pechuga de pollo, *Pectoralis major*, de aves alimentadas con una dieta a base de maíz-pasta de soya, adicionada con aceite de soya crudo y suplementada con dos antioxidantes: Vitamina E a una concentración de 10 y 100 mg kg⁻¹ de alimento, y aceite de orégano a una concentración de 100 mg kg⁻¹ de alimento (30.70 mg de timol y 9.36 mg de carvacrol por kg⁻¹ de alimento).

Las aves fueron sacrificadas por sección de la vena yugular y arteria carótida, la carne se enfrió en agua con hielo, se empacó al vacío, sin piel y tejido adiposo para almacenarse en congelación (-21 °C) hasta que se utilizó. La carne se descongeló en refrigeración (4 °C) por 12 horas; se picó y se mezcló (Mod. DPA139, Moulinex, México), y se elaboraron “hamburguesas” de 150 g y 12 cm de diámetro. Se utilizaron los siguientes tratamientos: 1) VE10 (hamburguesas de carne de pollos alimentados con vitamina E 10 mg kg⁻¹ de alimento), 2) VE10+MIEL

(hamburguesas de carne de pollos alimentados con vitamina E 10 mg kg⁻¹ de alimento, adicionadas con 3% de miel de abeja), 3) VE10+BHT (hamburguesas de carne de pollos alimentados con vitamina E 10 mg kg⁻¹ de alimento, adicionadas con 0.02% de BHT (Butil hidroxitolueno; First Quality Chemicals, México, D.F.), 4) VE100: hamburguesas de carne de pollos alimentados con vitamina E 100 mg kg⁻¹ de alimento y 5) AO100: hamburguesas de carne de pollos alimentados con aceite de orégano 100 mg kg⁻¹ de alimento.

Cocción y almacenamiento de la carne

La cocción de las hamburguesas se realizó en planchas eléctricas (Oster ®), hasta una temperatura interna de 74 °C; la temperatura se registró con un termopar digital (Modelo HH501BT, Omega Engineering Inc., Stamford, CT). Después de la cocción, las hamburguesas se enfriaron a temperatura ambiente durante una hora. La carne se cubrió con un empaque plástico (Egapac, La bolsita, México) permeable al oxígeno y posteriormente se almacenaron en refrigeración (4 °C) durante 0, 3, 6 y 9 días, y se congelaron (-21 °C) durante 0, 15, 30 y 45 días.

Estimación de la oxidación lipídica

La oxidación de la carne se determinó utilizando la técnica de TBARS. Se prepararon dos soluciones: 1) ácido 2-tiobarbitúrico 0.02 M (2-TBA, J. T Baker, USA) = 0.288 g de 2-TBA aforados a 100 cm³ con agua destilada; y 2) propilgalato (Sigma-Aldrich, Sigma, USA) al 0.5 % con sal disódica del ácido etiléndiamino-tetracético dihidratada (EDTA, J. T. Baker, Texas, USA) a 0.5 % = 5 g de PG + 5 g de EDTA aforados a 1000 cm³ con agua destilada (Rhee, 1978). En un vaso de precipitado se agregó una muestra de 30 g de carne más 45 cm³ de agua destilada, a 50 °C, más 30 cm³ de la solución de PG-EDTA; la mezcla se homogeneizó por 2 min en una licuadora (Osterizer®, Chicago, USA). De la mezcla obtenida, se colocaron 30 g en un matraz Kjeldahl, se agregaron 77.5 cm³ de agua destilada y 2.5 cm³ de HCl 4 N, con seis piedras de carbón activado, y se colectaron 50 cm³ del condensado. Se tomaron 5 cm³ del condensado y se combinaron con 5 cm³ de la solución 2-TBA; la solución se agitó y se dejó en baño de agua hirviendo por 35 min. El blanco contenía 5 cm³ de agua destilada más 5 cm³ de la solución de 2-TBA. Las soluciones se enfriaron a temperatura ambiente por 10 minutos y se midió la absorbancia, a 532 nanómetros con un espectrofotómetro (Mod. 110 RS, Marca Unico®, USA).

Los valores obtenidos de absorbancia fueron ajustados por un factor de corrección de 7.8 para transformarlos a mg de malondialdehído (MDA) por kilogramo de carne (Tarladgis *et al.*, 1960).

Medición de fenoles totales en miel

Se utilizó el método de Folin-Ciocalteus, modificado de Bertonec *et al.* (2007) para determinar los fenoles totales. Se prepararon dos soluciones: 1) solución de miel de abeja al 10% (5 g de miel aforada en 50 cm³ de agua destilada); y 2) solución de Folin-Ciocalteus al 0.2 N (1 cm³ de reactivo de Folin-Ciocalteus (Sigma-Aldrich, USA) + 9 cm³ de agua destilada). La solución de miel se filtró en un papel filtro 110 (Whatman®, Inglaterra). Se tomó 1 cm³ de la solución de Folin-Ciocalteus + 3 cm³ de la solución de miel, se mezclaron vigorosamente para dejarlos reposar en la oscuridad por 20 min a 20 °C, se midió su absorbancia a 750 nm contra un blanco de 3 cm³ de la solución de miel + 1 cm³ de H₂O. La concentración de fenoles se determinó con una curva de ácido gálico (Sigma-Aldrich, USA) en H₂O. La concentración de tres muestras de miel se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) 100 g⁻¹ de miel.

Determinación de flavonoides en miel

La concentración de flavonoides en miel se determinó por el método de Meda *et al.* (2005); se prepararon dos soluciones: 1) cloruro de aluminio anhidro (AlCl₃) a 2% (Sigma-Aldrich, USA) = 0.5 g de AlCl₃, aforados a 25 cm³ en metanol CH₃OH (Reasol, México); y 2) solución de miel de abeja al 5% (1.25 g en 25 cm³ de metanol). Se mezclaron 2 cm³ de la solución AlCl₃ + 2 cm³ de la solución de miel y se midió la absorbancia a 415 nm. La solución blanco fue 2 cm³ de la solución de miel + 2 cm³ de CH₃OH sin AlCl₃. La concentración de flavonoides se determinó con una curva de quercetina (Sigma-Aldrich, USA) en metanol. La concentración de tres muestras de miel se expresó como miligramos de quercetina (QE) 100 g⁻¹ de miel.

Actividad captadora del radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) en miel

La solución DPPH es de color violeta y funciona como captadora de radicales; al captarlos, cambia su coloración a color amarillo; ésta reacción puede cuantificarse por espectrofotometría. En el presente estudio se utilizó la actividad captadora de radicales de Meda *et al.* (2005) modificada. Se prepararon dos soluciones: 1) miel al 10%, 10 g de miel en 100 cm³ de CH₃OH; y 2) solución de 0.04 mg por cm³ de 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (Sigma-Aldrich, USA), 10 mg

de DPPH en 25 cm³ de CH₃OH. Se mezcló 1.5 cm³ de la solución de miel más 3.0 cm³ de la solución DPPH y se dejó reposar en la oscuridad, por 20 min a 20 °C; se midió la absorbancia a 517 nm. El blanco fue de 3 cm³ de la solución de DPPH y CH₃OH sin miel 50:50 v/v. La actividad captadora de radicales DPPH se calculó de la siguiente forma: % inhibitorio = [(absorbancia del DPPH – absorbancia de la muestra) / absorbancia del DPPH] × 100. Cincuenta por ciento de la inhibición (IC₅₀) de la actividad antioxidante se calculó como la concentración de la muestra que inhibe 50% de la actividad captadora de radicales DPPH bajo estas condiciones.

Análisis estadístico

La variable de respuesta evaluada fue la cantidad de MDA (mg kg⁻¹) de carne refrigerada o congelada. Los datos se analizaron con el procedimiento MIXED (SAS, 2000) y se usaron contrastes específicos para comparar las medias de los tratamientos.

Contraste 1: VE10 vs VE10+BHT, VE10+MIEL, VE100, AO100, efecto de la concentración baja de vitamina E en alimento.

Contraste 2: VE10+MIEL, VE10+BHT vs, VE100, AO100, diferencias entre antioxidantes adicionados al alimento y sobre la carne.

Contraste 3: VE10+MIEL vs, VE10+BHT, diferencia entre un antioxidante sintético y natural adicionado a la carne.

Contraste 4: VE100 vs. AO100, diferencia entre la vitamina E y aceite de orégano en alimento.

Se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + ANT_i + Q_{j(i)} + D_k + (ANT_i * D_{ik}) + E_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} = variable respuesta (MDA), μ = media general, ANT_i = efecto fijo del *i*-ésimo antioxidante (i = 1, 2, 3, 4, 5), $Q_{j(i)}$ = efecto de la hamburguesa anidada dentro del tratamiento, D_k = efecto del *k*-ésimo día (k = 0, 3, 6, 9), para el experimento en congelación se utilizó el mismo modelo y el efecto del *k*-ésimo día fue k = 0, 15, 30 y 45, para las muestras de carne en congelación, $(ANT_i * D_k)$ = efecto de la interacción antioxidante por día de refrigeración y por día de congelación, E_{ijk} = error experimental.

1.3. Resultados y discusión

Determinación de malondialdehído en carne refrigerada

En el Cuadro 8 se presentan los contrastes de los tratamientos en la concentración de MDA en carne refrigerada (4 °C). En el contraste 1 la carne del tratamiento VE10 mostró menor estabilidad oxidativa a los 9 días de almacenamiento ($P \leq 0.0046$) comparada con los tratamientos VE10+MIEL, VE10+BHT, VE100 y AO100. En el contraste 2 la carne de los tratamientos VE10+MIEL y VE10+BHT mostró menor estabilidad oxidativa al iniciar el experimento ($P \leq 0.0021$), pero no hubo diferencias con VE100 y AO100 los días 3, 6 y 9. En el contraste 3 la carne del tratamiento VE10+MIEL presentó mayor estabilidad oxidativa ($P \leq 0.0241$), excepto el tercer día comparada con carne del tratamiento VE10+BHT. En el contraste 4, la carne del tratamiento VE100 mostró mayor estabilidad oxidativa ($P \leq 0.0001$) los 9 días comparada con el tratamiento AO100. Al final del estudio la carne con VE100 y VE10+MIEL presentaron mayor estabilidad oxidativa durante la refrigeración (1.15 y 1.30 mg MDA kg⁻¹ de carne), que la carne de los tratamientos AO100, VE10+BHT y VE10 que presentaron menor estabilidad oxidativa (1.80, 1.61 y 2.33 mg MDA kg⁻¹ de carne), respectivamente.

Determinación de malondialdehído en carne congelada

En el Cuadro 9 se presentan los contrastes de los tratamientos en la concentración de MDA en carne congelada (-21 °C). En el contraste 1, la carne del tratamiento VE10 mostró menor estabilidad oxidativa a los 45 días de congelada ($P \leq 0.0018$) comparada con los tratamientos VE10+MIEL, VE10+BHT, VE100 y AO100. En el contraste 2, la carne de los tratamientos VE10+MIEL y VE10+BHT mostraron mayor estabilidad oxidativa el día 15 ($P \leq 0.0189$), pero no hubo diferencias con VE100 y AO100 los días 0, 30 y 15. En el contraste 3, la carne del tratamiento VE10+MIEL presentó mayor estabilidad oxidativa ($P \leq 0.016$) los días 15 y 30, los días 0 y 45 fue similar al tratamiento VE10+BHT. En el contraste 4, la carne del tratamiento VE100 presentó mayor estabilidad oxidativa ($P \leq 0.0124$) los días 0 y 45 comparada con el tratamiento AO100. Al final del estudio la carne con VE100 y VE10+MIEL presentaron mayor estabilidad oxidativa durante la congelación (0.63 y 0.52 mg MDA kg⁻¹ de carne), que la carne de los tratamientos AO100, VE10+BHT y VE10 que presentaron menor estabilidad oxidativa (0.90, 0.79 y 1.24 mg MDA kg⁻¹ de carne), respectivamente.

El contenido total de flavonoides de la miel utilizada fue de 4.49 ± 0.27 mg 100 g^{-1} de miel (mg de quercetina/100 g de miel) determinado con una curva estándar de quercetina ($r^2=0.9949$). El contenido de fenoles totales fue de 15.03 ± 0.90 mg/100 g de miel (mg equivalentes de ácido gálico/100 g de miel) determinado con una curva estándar de ácido gálico ($r^2=0.9831$). La actividad captadora de radicales del compuesto DPPH (IC_{50}) fue de 5 ± 1 mg por mL.

Los fenoles y flavonoides de la miel son una fuente natural de antioxidantes que puede evitar la formación de hidroperóxidos en la carne (Antony *et al.*, 2000; Johnston *et al.*, 2005); los cuales actúan en medios acuosos o no polares. Esto les permite intercalarse fácilmente en las membranas y actuar en diferentes sitios celulares (Aljadi y Kamaruddin, 2004). Los compuestos fenólicos contenidos en la miel pueden actuar donando un átomo de hidrógeno, como aceptores de radicales libres o interrumpen la reacción en cadena de la oxidación (Aljadi y Kamaruddin, 2004). Los ácidos cítrico y ascórbico contenidos en la miel pueden provocar una sinergia y aumentar la acción antioxidante de los compuestos fenólicos (Stinson *et al.*, 1960; Antony *et al.*, 2000; Bruce, 2002). Además, el α -tocoferol y el β -caroteno contenidos en la miel pueden estar involucrados en la reacción (Gheldof *et al.*, 2002). En conjunto disminuyen la oxidación de los ácidos grasos y los valores de MDA en la carne de pollo al adicionar la miel.

En estudios previos en condiciones *in vitro*, al evaluar la actividad antioxidante de la miel de abeja se observó que tiene un efecto similar al α -tocoferol y BHT (Nagai *et al.*, 2006; Mckibben y Engeseth, 2002), estos resultados indican que la capacidad de los antioxidantes naturales puede ser similar a los sintéticos.

En este estudio, los valores de MDA en carne de pollo adicionada con miel fueron menores al BHT. La efectividad antioxidante de la miel se debe a la suma y efecto de sus antioxidantes individuales (Ruiz *et al.*, 2011). Sin embargo, es importante considerar que el efecto de la miel depende de la fuente, región de procedencia, época del año, etc. Por lo que estos factores se deben tomar en cuenta al utilizarla para mantener la estabilidad oxidativa de la carne, pues la mayoría de la información es obtenida *in vitro* (Ruiz *et al.*, 2011). En carne, la miel puede aumentar su respuesta antioxidante conforme aumenta su cantidad: 15% de miel incrementa la estabilidad oxidativa sin que su origen tenga efecto (Johnston *et al.* 2005). Sin embargo, el sabor de la carne se puede alterar (Camo *et al.*, 2011). Por lo tanto, deben utilizarse cantidades menores ($\leq 5\%$), considerando la cantidad de fenólicos, flavonoides y origen (Mckibben and Engeseth 2002).

La efectividad de la vitamina E se debe a su acumulación en las membranas celulares (Mitsumoto *et al.*, 1993), donde protegen a los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados de la acción de los radicales libres o peróxidos (Niki *et al.*, 1991). El α -tocoferol dona un hidrógeno y conserva su estructura al recibir un átomo de hidrógeno donado al α -tocoferil por el ácido ascórbico (Wen *et al.*, 1997; Higgins *et al.*, 1998). En carne cocida la vitamina E sigue activa debido a que ésta soporta altas temperaturas (Cortinas *et al.*, 2005) y se puede regenerar por el ácido ascórbico presente en la carne (Decker y Hultin, 1990).

El aceite de orégano es adicionado a la dieta de las aves al mismo nivel de inclusión que la vitamina E, pero no logra mantener la estabilidad oxidativa de la carne como la vitamina E (Botsoglou *et al.*, 2002). El aceite de orégano es una mezcla de compuestos con actividad antioxidante, por lo que su efecto puede depender de la cantidad y tipo de compuesto que se acumule en los tejidos del músculo, para incrementar su capacidad antioxidante es necesario aumentar el nivel de inclusión en la dieta del ave (Reische *et al.*, 2002; Botsoglou *et al.*, 2002), así como realizar investigación para determinar el nivel óptimo en dieta que brinde el mayor efecto en la vida de anaquel de la carne, sin afectar sus características organolépticas.

Las condiciones de refrigeración aumentaron los valores de MDA en la carne al incrementar el tiempo de almacenamiento (Cuadro 8). Esto se explica debido a que aumenta el tiempo de almacenamiento y hay acumulación de hidroperóxidos y radicales libres en la carne, causado por la disminución del antioxidante activo (Wood y Enser, 1997; Higgins *et al.*, 1998). La cantidad de MDA del tratamiento VE10 almacenado en refrigeración fue de 3.246 mg de MDA kg^{-1} de carne, este valor indica que la carne de pollo está oxidada pues a partir 2.0 mg de MDA kg^{-1} de carne se puede percibir este sabor (Wen *et al.*, 1997), valor superado al tercer día de almacenamiento. Por lo tanto, la estabilidad oxidativa de la carne se pudo mantener con los tratamientos VE100 (1.616 mg de MDA kg^{-1} de carne) y VE10+MIEL (1.769 mg de MDA kg^{-1} de carne) hasta los 9 días. Los tratamientos; VE10+BHT y AO100 superaron el umbral de estabilidad oxidativa el sexto día (2.050 y 2.151 mg de MDA kg^{-1} de carne). Estos resultados indican que es necesario aumentar la cantidad de BHT en carne para mantener la estabilidad oxidativa del producto, situación que no es viable porque aumentaría el riesgo en la salud del consumidor (Ito *et al.*, 1983).

En carne congelada, los niveles de MDA en todos los tratamientos disminuyeron a partir del día 15 de almacenamiento ($P \leq 0.05$). En ningún tratamiento se superó el umbral de oxidación del producto, como sucedió con la carne refrigerada (Wen *et al.*, 1997). La reducción de MDA posiblemente la causó el almacenamiento de la carne en congelación ($- 21\text{ }^{\circ}\text{C}$), resultados similares en carne de res se reportaron por Johnston *et al.* (2005) y Marcincak *et al.* (2008) en carne de pollo. Por ello, la congelación es un método para conservar la calidad de la carne almacenada, en tiempos cortos de almacenamiento en términos de oxidación de ácidos grasos.

El efecto antioxidante de la miel depende del contenido de fenoles y flavonoides (Mckibben y Engeseth, 2002); los principales compuestos fenólicos y flavonoides que se encuentran en miel son los que ejercen su actividad antioxidante (Aljadi y Kamaruddin, 2004). En la presente investigación, los contenidos de fenoles (15.03 mg) y (flavonoides 4.49 mg 100 g⁻¹) de miel, cantidades mayores a las reportadas por Blasa *et al.* (2006; 12.5 mg y 2.93 mg 100 g⁻¹ de miel) y similares a los reportados por Meda *et al.* (2005).

La actividad del DPPH para recibir hidrógenos de la miel fue menor ($5 \leq \text{mg mL}^{-1}$) comparada con mieles multifloras evaluadas por Meda *et al.* (2005) ($\geq 10 \text{ mg mL}^{-1}$). Ruiz *et al.* (2011) reportaron correlación positiva entre la propiedad antioxidante de la miel y el contenido de flavonoides en mieles mexicanas. Esto significa que los compuestos antioxidantes de la miel utilizada pueden donar fácilmente sus hidrógenos y favorecer su efecto antioxidante.

1.4. Conclusiones

La carne de aves alimentadas con 10 mg kg⁻¹ de alimento presentó los valores de oxidación más altos. El efecto antioxidante de la miel de abeja y BHT, fue similar a los antioxidantes suplementados en las dietas, vitamina E y aceite de orégano. Ambas formas de adición de los antioxidantes tienen efectos similares en carne refrigerada o congelada, preservando la vida de anaquel del producto por más tiempo. La carne de pollos alimentados con vitamina E presentó una mayor estabilidad oxidativa comparada con aceite de orégano al mismo nivel de inclusión. Estos resultados sugieren que la vitamina E adicionada a través del alimento es más eficiente en mantener la estabilidad oxidativa de la carne.

1.5. Literatura citada

- Abu-Lafi, S., I. Odeh, H. Dewik, M. Qabajah, L. O. Hanus, and V.M. Dembitsky. 2008. Thymol and carvacrol production from leaves of wild Palestinian *Majorana syriaca*. *Bioresource Technol.* 99: 3914-3918.
- Aljadi, A. M, and M. Y. Kamaruddin. 2004. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chem.* 85: 513-518.
- Antony, S., J. R. Rieck, and P. L. Dawson. 2000. Effect of dry honey on oxidation in turkey breast meat. *Poult. Sci.* 79: 1846-1850.
- Bertoncelj, J., U. Doberšek, M. Jamnik, and T. Golob. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and color of Slovenian honey. *Food Chem.* 105: 822-828.
- Blasa, M., M. Candiracci, A. Accorsi, M. P. Piacentini, M. C. Albertini, and E. Piatti. 2006. Raw *Millefiori* honey is packed full of antioxidants. *Food Chem.* 97: 217-22.
- Borek, C. 2004. Dietary antioxidants and human cancer. *Integr. Cancer Ther.* 3: 333-341.
- Botsoglou, N. A., E. Christaki, D. J. Fletouris, P. Florou-Paneri, and A. B. Spais. 2002. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Sci.* 62: 259-265.
- Branen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52: 59-63.
- Bruce, J. G. 2002. Food additives. Antioxidants. Marcel Dekker, Inc. New York. 413 p.
- Camo, J., A. Lorés, D. Djenane, J. A. Beltrán, and P. Roncalés. 2011. Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. *Meat Sci.* 88: 174-178.
- Conacher, H. B. S., F. Iverson, P. Y. Lau, and B. D. Page. 1986. Levels of BHT and BHA in human and animal adipose tissue: interspecies extrapolation. *Food Chem. Toxicol.* 24: 1159-1162.
- Cortinas, L., A. Barroeta, C. Villaverde, J. Galobart, F. Guardiola, and M. D. Baucells. 2005. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality: lipid oxidation. *Poult. Sci.* 84: 48-55.
- Decker, E. A., and H. Hultin. 1990. Factors influencing catalysis of lipid oxidation by the soluble fraction of mackerel muscle. *J. Food Sci.* 55: 447-450.

- Fasseas, M. K., K. C. Mountzouris, P. A. Tarantilis, M. Polissiou, and G. Zervas. 2007. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chem.* 106: 1188-1194.
- Figiel, A., A. Szumny, A. Gutierrez-Ortiz, and A. A. Carbonell-Barrachina. 2010. Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. *J. Food Eng.* 98: 240-247.
- Gheldof, N., X. H. Wang, N. J. Engeseth. 2002. Identification and quantification of antioxidant components of honey from various floral sources. *J. Agr. Food. Chem.* 50: 5870-5877.
- Higgins, F. M., J. P. Kerry, D. J. Buckleyb, and P. A. Morrissey. 1998. Effect of dietary α -tocopheryl acetate supplementation on α -tocopherol distribution in raw turkey muscles and its effect on the storage stability of cooked turkey meat. *Meat Sci.* 50: 373-383.
- Ito, N., S. Fukushima, A. Hagiwara, M. Shibata, and T. Ogiso. 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Natl Cancer Ins.* 70: 343-352.
- Johnston, J. E., H. A. Sepe, C. L. Miano, R. G. Brannan, and A. L. Alderton. 2005. Honey inhibits lipid oxidation in ready-to-eat ground beef patties. *Meat Sci.* 77: 627-631.
- Kong, B., H. Zhang, and L. Xiong. 2010. Antioxidant activity of spice extracts in a liposome system and in cooked pork patties and the possible mode of action. *Meat Sci.* 85: 772-778.
- Li, Z., S. M. Henning, Y. Zhang, A. Zerlin, L. Li, K. Gao, R. Lee, H. Karp, G. Thames, S. Bowerman, and D. Heber. 2010. Antioxidant-rich spice added to hamburger meat during cooking results in reduced meat, plasma, and urine malondialdehyde concentrations. *A. J. Clin. Nutr.* 91: 1180-1184.
- Lee, K. W., H. Everts, and A. C. Beynen. 2004. Essential oils in broiler nutrition. *Int. J. Poult. Sci.* 3: 738-752.
- Maghraby, A. S. and S. A. Hassan. 2005. Effect of antioxidative properties of honey on *schistosoma mansoni*-infected mice. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 14: 323-326.
- Mandal, S., S. Yadav, S. Yadav, R. K. Nema. 2009. Antioxidants: A Review. *J. Chem. Pharm. Res.* 1: 102-104.
- Marcincak, S., R. Cabadaj, P. Popelka, and L. Soltysova. 2008. Antioxidative effect of oregano supplemented to broilers on oxidative stability of poultry meat. *Slov. Vet. Res.* 45: 61-66.

- Masui, T., M. Hirose, K. Imaida, S. Fukushima, S. Tamano, and N. Ito. 1986. Sequential changes of the forestomach of F344 rats, syrian golden hamsters, and B6C3F1 mice treated with butylated hydroxyanisole. *Jpn. J. Cancer Res.* 77: 1083-1090.
- Mckibben, J., and N. J. Engeseth. 2002. Honey as a protective agent against lipid oxidation in ground turkey. *J. Agr. Food. Chem.* 50: 592-595.
- Meda, A., C. G. Lamien, M. Romito, J. N. Millogo, and N. O. Germaine. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91: 571-577.
- Mitsumoto, M., R. N. Arnold, D. M. Schaefer, and R. G. Cassens. 1993. Dietary versus postmortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef. *J. Anim. Sci.* 71: 1812-1816.
- Nagai, T., R. Inoue, N. Kamamori, N. Suzuki, and T. Nagshima. 2006. Characterzation of honey from different floral sources. It's functional properties and effects of honey species on storage of meat. *Food Chem.* 97: 256-262.
- National Research Council. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Nguyen, U., D. A., Evans, and G. Frakman. 1994. Natural antioxidants produced by supercritical extraction, in *Supercritical Fluid Processing of Food and Biomaterials*. Ed. Blackie Academic & Professional, An imprint of Chapman & Hall, chap. 8, 103.
- Niki, D., Y. Yamamoto., E. Komuro, and K. Sato. 1991. Membrane damage due to lipid oxidation. *A. J. Clin. Nutr.* 53: 201-205.
- Reische, D. W., D. A. Lillard, and R. R. Eitenmiller. 2002. Antioxidants. *Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology*. Marcel Dekker, New York, NY. Chapter 15.
- Rhee, K. S. 1978. Minimization of further lipid peroxidation in the distillation 2-thiobarbituric acid of fish and meat. *J. Food Sci.* 43: 1776-1778.
- Ruiz, N. Y., M. M. Viuda, J. L. Fernández, J. M. C. Zaldívar, V. Kuric, and J. A. A. Pérez. 2011. Antioxidant activity of artisanal honey from Tabasco, Mexico. *Int. J. Food Prop.* 14: 459-470.
- SAS Institute. 2000. *SAS/STAT Guide for Personal Computers*. 8th ed. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
- Shahidi, F. 2000. Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung* 44: 158-163.

- Stinson, E. E., M. H. Subers, J. Petty, and J. W. White. 1960. The composition of honey. V. Separation and identification of the organic acids. *Arch. Biochem. Biophys.* 89: 6-12.
- Tarladgis, B. G., B. M. Watts, and M. T. Younathan. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 37: 44-48.
- Wen, J., P. A. Morrissey, D. J. Buckle, and P. J. A. Sheehy. 1997. Supranutritional Vitamin E supplementation in pigs: influence on subcellular deposition of α -Tocopherol and on oxidative stability by conventional and derivative spectrophotometry. *Meat Sci.* 314: 301-310.
- Wood, D., and M. Enser. 1997. Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *Br. Poult. Sci.* 78: 49-60.

Cuadro 8. Medias de cuadrados mínimos y contrastes ortogonales para malondialdehído (mg kg⁻¹ de carne) determinado en carne refrigerada de 0 a 9 días.

Día	Tratamientos [†]					EE [¶]	Contraste [§] P=			
	VE10	VE10+MIEL	VE10+BHT	VE100	AO100		1	2	3	4
0	0.701	0.514	0.762	0.602	0.434	0.037	0.0046	0.0021	<0.0024	0.0001
3	2.511	1.220	1.190	0.975	1.641	0.101	<0.0001	0.3164	0.8363	<0.0001
6	2.864	1.702	2.050	1.422	2.151	0.106	<0.0001	0.4011	0.0241	<0.0001
9	3.246	1.769	2.470	1.616	2.975	0.210	<0.0001	0.4036	0.0215	<0.0001

[†]Tratamientos: VE10: Vitamina E 10 mg kg⁻¹ de alimento; VE10+MIEL: 3 % de miel en carne; VE10+BHT: 0.02% de BHT en carne; VE100: Vitamina E 100 mg kg⁻¹ de alimento; AO100: Aceite de orégano 100 mg kg⁻¹ de alimento.

[¶]EE: Error estándar.

[§]Contraste ortogonal: C1 = VE10 vs. VE100, AO100, VE10+BHT, VE10+MIEL; C2 = VE10+MIEL, VE10+BHT vs. VE100, AO100; C3 = VE10+MIEL vs. VE10+BHT; C4 = VE100 vs. AO100.

Cuadro 9. Medias de cuadrados mínimos y contrastes ortogonales para malondialdehído (mg kg⁻¹ de carne) determinado en carne congelada de 0 a 45 días.

Día	Tratamientos [†]					EE [¶]	Contraste [§] P=			
	VE10	VE10+MIEL	VE10+BHT	VE100	AO100		1	2	3	4
0	2.161	1.056	1.129	0.950	1.312	0.099	<0.0001	<0.6986	0.6021	0.0124
15	0.982	0.366	0.834	0.760	0.652	0.044	0.0001	0.0189	0.0001	0.0868
30	1.106	0.278	0.709	0.564	0.755	0.091	0.0001	0.0715	0.0016	0.1453
45	0.753	0.406	0.514	0.247	0.884	0.065	0.0018	0.1114	0.2488	0.0001

[†]Tratamientos: VE10: Vitamina E 10 mg kg⁻¹ de alimento; VE10+MIEL: 3 % de miel en carne; VE10+BHT: 0.02% de BHT en carne; VE100: Vitamina E 100 mg kg⁻¹ de alimento; AO100: Aceite de orégano 100 mg kg⁻¹ de alimento.

[¶]EE: Error estándar.

[§]Contraste ortogonal: C1 = VE10 vs. VE100, AO100, VE10+BHT, VE10+MIEL; C2 = VE10+MIEL, VE10+BHT vs. VE100, AO100; C3 = VE10+MIEL vs. VE10+BHT; C4 = VE100 vs. AO100.

CAPITULO III. DETERMINACIÓN DE TIMOL Y CARVACROL EN CARNE DE POLLO

Resumen

El timol y el carvacrol son antioxidantes naturales contenidos en el aceite de orégano. Al adicionar la dieta de las aves con este aceite, sus compuestos pueden acumularse en los tejidos del cuerpo, ejerciendo su actividad antioxidante en la carne. Los objetivos de este estudio fueron analizar y cuantificar la cantidad de timol y carvacrol en carne de pollos suplementados con aceite de orégano en dieta. Los pollos fueron criados durante 42 días, alimentados con una dieta a base de maíz-pasta de soya, con aceite de soya crudo o acidulado. La dieta se suplementó con 100 mg de aceite de orégano kg^{-1} de alimento. Al final de la engorda, las aves fueron sacrificadas y se colectaron muestras del músculo *Pectoralis major* para cuantificar su contenido de timol y carvacrol. La detección y cuantificación de estos compuestos se realizó con cromatografía de gases con espectrofotometría de masas (CG/EM). Los valores obtenidos se calcularon a través de la ecuación de la curva de calibración, el área de respuesta del equipo y su porcentaje de recuperación. Los datos fueron analizados mediante la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney. Los resultados mostraron que la cantidad de timol y carvacrol en músculo fue mayor en aves que recibieron aceite de orégano al compararlas con carne de aves que no lo recibieron en el alimento $0.38 - 0.26$ vs, $0.99 - 0.72$ μg por g^{-1} de carne ($P \leq 0.05$), respectivamente, independientemente del tipo de aceite de soya adicionado en la dieta. En conclusión, la suplementación de aceite de orégano esencial en la dieta de pollos de engorda incrementa la deposición de timol y carvacrol en los tejidos del músculo de las aves, por lo tanto su estabilidad oxidativa aumenta.

Palabras clave: aceite de orégano, timol, carvacrol, carne de pollo.

DETERMINATION OF THYMOL AND CARVACROL IN CHICKEN MEAT

Abstract

Thymol and carvacrol are natural antioxidants contained in the oregano oil, when the diet of birds is supplement with this oil, these compounds can accumulate in body tissues, exerting its antioxidant activity in meat. The objectives of this study were to analyze and quantify the amount of thymol and carvacrol in meat chicken meat supplemented with dietary oil oregano. The broilers were raised for 42 days, feed a diet based on corn-soybean meal, crude soybean oil or acidulated soybean oil soapstock. The diet was supplemented with 100 mg of oregano oil kg⁻¹ of feed. At the end of the fattening, the birds were slaughtered and muscle samples were collected to quantify *Pectoralis major* content of thymol and carvacrol. Detection and quantification of these compounds was performed using gas chromatography with mass spectrometry (CG/EM). The values obtained were calculated using the equation of the calibration curve, the area of response and the percentage of recovery. Data were analyzed using the Wilcoxon-Mann-Whitney test. The results showed that the amount of thymol and carvacrol in muscle was higher in birds feed with oregano oil 0.38 – 0.26 vs, 0.99 – 0.72 µg per g⁻¹ of meat ($P \leq 0.05$), respectively, regardless of type of soybean oil added to the diet. In conclusion, supplementation of oregano essential oil in the diet of broilers increased the deposition of thymol and carvacrol in muscle tissues of birds, therefore increase lipid oxidation stability of meat.

Keywords: oregano oil, thymol, carvacrol, chicken meat.

1.1. Introducción

Los antioxidantes son sustancias que al ser incorporados en la dieta de las aves disminuyen el proceso oxidativo de los ácidos grasos de la carne, incrementando su vida de anaquel (Mandal *et al.*, 2009). En la última década se han utilizado especias y extractos de plantas para mantener la estabilidad oxidativa de la carne; éstas contienen compuestos antioxidantes que extienden la vida de anaquel de la carne y por ser naturales e inoos tienen mayor aceptación por el consumidor (Hernández *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2008; Ündeger *et al.*, 2009).

El orégano (*Origanum vulgare*) es una planta aromática utilizada como especie para mejorar las características organolépticas de los alimentos. El aceite de orégano se obtiene de las hojas por destilación el cual contiene relativamente altas concentraciones de timol y carvacrol. En algunos aceites éstos compuestos pueden alcanzar el 70% (Montoya *et al.*, 2007; Figiel *et al.*, 2010). El timol y carvacrol son compuestos fenólicos con actividad antiparasitaria, antimicrobiana y antioxidante (Arcila *et al.*, 2004; Fasseas *et al.*, 2007; Nostro *et al.*, 2007). La composición química del aceite de orégano varía con el tipo de clima, la estación del año, el periodo de la cosecha y la técnica usada para obtenerlo (Baydar *et al.*, 2004; Figiel *et al.*, 2010). Por lo que es importante considerar estos factores cuando se utiliza el aceite de orégano como ingrediente con función antioxidante.

En pollos de engorda el aceite de orégano se ha utilizado para promover su crecimiento y disminuir el uso de antibióticos convencionales (Giannenas *et al.*, 2005; Symeon *et al.*, 2010). Adicionalmente, se ha encontrado que la incorporación del aceite de orégano en la dieta funciona como antioxidante para mantener la estabilidad oxidativa de la carne de pollo (Botsoglou *et al.*, 2002 a y b). La adición de timol y carvacrol en su estado puro también presentan actividad antioxidante (Luna *et al.*, 2010). Este manejo nutricional mantiene la calidad de la carne y de productos cárnicos (Young *et al.*, 2003; Marcinčák, 2008). Sin embargo, existen pocos trabajos sobre la identificación del timol y carvacrol en la carne de pollo. Esta investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de timol y carvacrol en pechuga de pollos alimentados con aceite de orégano en la dieta.

1.2. Materiales y métodos

Carne

Se utilizó carne de pechuga de pollos alimentados con una dieta a base de maíz y pasta de soya, suplementada con 100 mg de aceite de orégano, con un contenido de timol de 30.70 mg y de 9.36 mg de carvacrol kg^{-1} de alimento (**ORE**) y carne de aves alimentadas con la dieta base (**TES**). El alimento incluyó aceite de soya crudo (**ASC**) o aceite de soya acidulado (**ASA**). Muestras de músculo fueron envasadas al vacío y congeladas ($-21\text{ }^{\circ}\text{C}$), desde el sacrificio de las aves hasta su análisis en el laboratorio.

Estándares y reactivos

Los estándares de timol (99.5%) y carvacrol (98%) se obtuvieron de Sigma Aldrich, México (Catálogo T0501 y W224502); el cloruro de metileno (CH_2Cl_2), de Fermont, México (99.9%), el cloruro de sodio y el sulfato de magnesio de J. T. Baker (Catálogo 3624-01, México) y Sigma-Aldrich (Catálogo M7506, Japón), respectivamente.

Para preparar la solución madre de estos compuestos (965 y $976\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente), el timol se pesó en una báscula analítica (Ohaus®, Modelo AP210S, Suiza) y el carvacrol se midió con una jeringa microlítica (Hamilton®, Reno Nevada, USA); ambos compuestos fueron colocados en cloruro de metileno y se aforaron a 1 mL en un matraz graduado de 1 mL (Kimax, EUA). De la solución obtenida se tomaron $100\text{ }\mu\text{L}$ con una jeringa microlítica y se llevaron a 1 mL nuevamente para obtener la solución madre. Las soluciones estándar utilizadas para la curva de calibración del cromatógrafo se prepararon en cloruro de metileno por dilución de la solución mencionada: 80 , 50 , 20 , 10 , 5 y $2\text{ }\mu\text{L}$ aforados a 1 mL y se almacenaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para ser analizadas posteriormente.

Extracción de timol y carvacrol de la carne

La carne se trituró en una picadora (Moulinex®) por 20 seg y se mezcló manualmente durante 5 min; se colocaron 10 g de carne en un tubo de polipropileno con 10 mL de CH_2Cl_2 , se mezclaron por 2 min y se dejaron reposar durante 30 min. Se agregaron 1.5 g de MgSO_4 anhidro y 1 g de NaCl; la muestra se agitó vigorosamente y se centrifugó a 3,000 rpm (Eppendorf, Mod. 5804. 4083 fcr, New York, EUA) por 5 min. De la capa superior se tomaron 6 mL en un tubo de

centrifuga de 15 mL y se adicionaron 0.9 g de MgSO₄, luego se centrifugaron por segunda vez en las condiciones mencionadas; del sobrenadante, 1 mL se concentró a 100 µL con una corriente de nitrógeno.

Determinación de timol y carvacrol

Para determinar la presencia de timol y carvacrol se utilizó un cromatógrafo de gases (CG; Hewlett Packard P-6890, California, EUA) acoplado a un espectrómetro de masas (EM; Hewlett Packard 7953, California, EUA). La temperatura del puerto de inyección fue de 150 °C; se utilizó una columna capilar Hewlett Packard 5ms® (30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de espesor de la película, California, EUA). La temperatura inicial del horno fue de 60 °C, por 5 min, después se incrementó 20 °C por min hasta alcanzar los 200 °C; se utilizó helio como gas acarreador. El EM se operó en modo scan (rango m/z: 30-550) con ionización electrónica (70 eV). Las temperaturas del cuadrupolo, fuente de iones e interfase fueron de 150, 230 y 220 °C, respectivamente. Se inyectó, manualmente, 1 µL de la muestra en modo splitless y se comparó con la base de datos NIST 2.0 (Mass Spectral Search Program, EUA). Los iones utilizados para cuantificar e identificar el timol y carvacrol se muestran en el Cuadro 10.

Linealidad y rango analítico

Se elaboró una curva estándar con los datos obtenidos de una inyección de 1 µL de los estándares a diferentes concentraciones de timol (1.93, 4.82, 9.65, 19.30, 48.25 y 77.2 mg mL⁻¹) y carvacrol (1.95, 4.88, 9.76, 19.52, 48.8 y 78.0 mg mL⁻¹).

Análisis estadístico

La prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney (SAS, 2000) se utilizó para analizar las diferencias en la cantidad de timol o carvacrol encontrado en la carne.

1.3. Resultados y discusión

Detección de timol y carvacrol con estándares

Las muestras de timol y carvacrol de los estándares utilizados en cloruro de metileno se detectaron por CG; la concentración mínima para timol y carvacrol se determinó en 0.0193 y 0.0195 mg mL⁻¹, respectivamente. La técnica presentó linealidad en el rango de 1.93 a 77.2 mg mL⁻¹ para timol y 1.95 a 78.0 mg mL⁻¹ para carvacrol, con coeficientes de correlación (R) mayores de 0.99 (Cuadro 10 y 11).

La linealidad utilizada para cuantificar timol y carvacrol fue adaptada (Méndez *et al.*, 2008) de acuerdo con los criterios utilizados para la confirmación de los compuestos por CG-EM: (1) presencia de al menos tres iones característicos del espectro de masas; (2) el pico cromatográfico tuvo el mismo tiempo de retención (TR) que el estándar de referencia del compuesto; (3) la proporción de la abundancia relativa de los iones del patrón espectral obtenido coincidió con el estándar de referencia; (4) el radio del ruido de la señal de cada m/z (masa/carga) usada fue de >3; y (5) el blanco de matriz no debe presentar interferencias o picos en el mismo tiempo de retención que el compuesto de interés (Mastovska y Lehotay, 2003).

Determinación de timol y carvacrol en carne

En la Figura 8 se presentan los resultados de timol y carvacrol determinados en la carne de pechuga de pollos que recibieron aceite de orégano con aceite de soya crudo en la dieta. La cantidad de estos compuestos fue mayor en carne de pollos alimentados con aceite de orégano que en aquellas que no lo recibieron (0.99 - 0.72 vs, 0.38 - 0.26 µg g⁻¹ de carne) (P ≤ 0.05).

En la Figura 9 se presentan los resultados de timol y carvacrol determinado en el *Pectoralis major* de pollos que recibieron aceite de orégano con aceite de soya acidulado. La cantidad de timol y carvacrol en carne de pollos alimentados con aceite de orégano fue mayor, comparada con la de pollos que no lo recibieron (1.14 – 0.55 vs, 0.20 – 0.08 µg g⁻¹ de carne) (P ≤ 0.05).

También se encontraron cantidades de timol y carvacrol en muestras de carne de pollos que no recibieron aceite de orégano en la dieta. Lo que indica que otros ingredientes utilizados contienen éstos compuestos (Kim *et al.*, 2003; Dykes *et al.*, 2005; Cabrera-Soto *et al.*, 2009) y al estar presentes en la dieta del animal se depositan en la carne (Boutsoglou *et al.*, 2002b).

Los resultados indican que tanto el timol como el carvacrol contenidos en el aceite de orégano se acumulan en las fibras musculares y su contenido aumenta al aumentar la cantidad adicionada en el alimento. Sin embargo, las técnicas utilizadas para identificar y medir estos compuestos en carne son limitadas; por lo tanto, su contenido ha sido determinado indirectamente como su capacidad antioxidante al compararla con carne de aves que no los reciben (Botsoglou *et al.*, 2002a; Marcinčák *et al.*, 2008; Luna *et al.*, 2010).

La acumulación de timol y carvacrol en carne puede estar determinada por el tipo de tejido, en esta investigación sólo se utilizó pechuga. Sin embargo, la acumulación de estos antioxidantes puede ser mayor en el hígado, cerebro, riñón, muslo, grasa abdominal o piel; debido a que en estos tejidos hay mayor acumulación de ácidos grasos (Botsoglou *et al.*, 2002b; Luna *et al.*, 2010) que pueden favorecer la distribución del timol y carvacrol (Bjørneboe *et al.*, 1990).

La fuente concentrada de energía puede afectar la absorción de los antioxidantes naturales debido a que las aves no aprovechan igual las grasas que los aceites (Wiseman y Salvador, 1991). Además, se puede alterar su mecanismo de acción (Yanishlieva *et al.*, 1999), disminuir su efecto antioxidante en el organismo de las aves (Tavárez *et al.*, 2011) y finalmente deteriorar la calidad de la carne (Morrisey *et al.*, 1998). Pero la adición de aceite de soya crudo o aceite de soya acidulado a la dieta de las aves no presentó efecto en la acumulación del timol o carvacrol.

En la actualidad, los antioxidantes naturales son una alternativa para los productores de pollo, ya que son económicos y aceptados ampliamente por el consumidor. Estos compuestos, al estar presentes en la carne de pollo, pueden mejorar la capacidad antioxidante del organismo al ingerirlos a través de los alimentos (Su *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2010; Viuda-Martos *et al.*, 2010), distribuidos y acumulados en el cuerpo, pueden proteger a los ácidos grasos insaturados del proceso oxidativo (Youdim y Deans, 1999).

1.4. Conclusiones

El timol y carvacrol son compuestos antioxidantes que se encuentran en los tejidos del músculo en mayor cantidad cuando la dieta del ave se suplementa con aceite de orégano y en menor cantidad con una dieta comercial estándar.

1.5. Literatura citada

- Arcila, L. C. C., G. P. Loarca, S. L. Uribe, and E. G. Mejia. 2004. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Arch. Latinoam. Nutr.* 54: 100-111.
- Baydar, H., O. Sadiç, G. Ozkan, and T. Karadoğan. 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control.* 15: 169-172.
- Bjørneboe, A., G. E. Bjørneboe, and A. A. Drevoh. 1990. Absorption, transport and distribution of vitamin E. *J. Nutr.* 120: 233-242.
- Botsoglou, N. A., E. Christaki, D. J. Fletouris, P. Florou-Paneri, and A. B. Spais. 2002a. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Sci.* 62: 259-265.
- Botsoglou, N. A., P. Florou-Paneri, E. Christaki, D. J. Fletouris, and A. B. Spais. 2002b. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on ironinduced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *Brit. Poultry Sci.* 43: 223-230.
- Cabrera-Soto, M. L., Y. Salinas-Moreno, G. A. Velázquez-Cardelas and E. Espinosa-Trujillo. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia* 43: 827-839.
- Dykes, L., L. W. Rooney, R. Waniska, and W. L. Rooney. 2005. Phenolic compounds and antioxidant activity of sorghum grains of varying genotypes. *J. Agr. food Chem.* 53: 6813-6818.
- Fasseas, M. K., K. C. Mountzouris, P. A. Tarantilis, M. Polissiou, and G. Zervas. 2007. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chem.* 106: 1188-1194.
- Figiel, A., A. Szumny, A. Gutiérrez-Ortíz, A. Carbonell-Barrachina. 2010. Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. *J. Food Eng.* 98: 240-247.
- Giannenas, I. A., P. Florou-Paneri, N. A. Botsoglou, E. Christaki, and A. B. Spais. 2005. Effect of supplementing feed with oregano and/or alpha-tocopheryl acetate on growth of broiler chickens and oxidative stability of meat. *J. Anim. Feed Sci.* 14: 521-535.

- Hernández, F., J. Madrid, V. García, J. Orengo, and M. D. Megías. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult. Sci.* 83: 169-174.
- Kim, D. O., O. K. Chun, Y. J. Kim, H. Y. Moon, and C. Y. Lee. 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.* 51: 6509-6515.
- Li, Z., S. M. Henning, Y. Zhang, A. Zerlin, L. Li, K. Gao, R. Lee, H. Karp, G. Thames, S. Bowerman, and D. Heber. 2010. Antioxidant-rich spice added to hamburger meat during cooking results in reduced meat, plasma, and urine malondialdehyde concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* 91: 1180-1184.
- Liu, H., N. Qiu, H. Ding, and R. Yao. 2008. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. *Food Res. Int.* 41: 363-370.
- Luna, A., M. C. Labaque, J. A. Zygodlo, and R. H. Marin. 2010. Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. *Poultry Sci.* 89: 366-370.
- Mandal, S., S. Yadav, S. Yadav, R. K. Nema. 2009. Antioxidants: A Review. *J. Chem. Pharm. Res.* 1: 102-104.
- Marcinčák, S., R. Cabadaj, P. Popelka, and L. Šoltýsová. 2008. Antioxidative effect of oregano supplemented to broilers on oxidative stability of poultry meat. *Slov. Vet. Res.* 45:61-66.
- Mastovska, K. and S. Lehotay. 2003. Practical approaches to fast gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1000: 153-180.
- Méndez, A., E. Y. Balcinde, Q. V. C. González, and E. C. Rodríguez. 2008. Validation of analytical method for quality control of residual solvents (n-hexane and acetone) in D-002: new active ingredient from beeswax. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 47: 646-650.
- Montoya, G., J. Londoño., L. Yassin, G. Vásquez, M. Rojas, and R. Ramírez. 2007. Monoterpenos aromáticos timol y carvacrol: aproximaciones de su posible papel en procesos claves de la patología cardiovascular. *Scientia et Technica* 33: 27-32.
- Morrissey, P. A., P. J. A. Sheehy, K. Galvin, J. P. Kerry, and D. J. Buckley. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Sci.* 49: 73-86.
- Nostro, A., A. R. Sudano, G. Bisignano, A. Marino, M. A. Cannatelli, F. C. Pizzimenti, P. L. Cioni, F. Procopio, and A. R. Blanco. 2007. Effects of oregano, carvacrol and thymol on

- Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. J. Med. Microbiology 56: 519-523.
- SAS Institute. 2000. SAS/STAT Guide for Personal Computers. 8th ed. SAS Institute. Cary, NC.
- Su, L., J. Yin, D. Charles, K. Zhou, J. Moore, and L. Yu. 2007. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. Food Chem. 100: 990-997.
- Symeon, G. K., C. Zintilas, N. Demiris, L. A. Bizelis, and S. G. Deligeorgis. 2010. Effects of oregano essential oil dietary supplementation on the feeding and drinking behaviour as well as the activity of broilers. Int. J. Poult. Sci. 9: 401-405.
- Tavárez, M. A., D. D. Boler, K. N. Bess, J. Zhao, F. Yan, A. C. Dilger, F. K. McKeith and J. Killefer. 2011. Effect of antioxidant inclusion and oil quality on broiler performance, meat quality, and lipid oxidation. Poult. Sci. 90: 922-930.
- Ünderger, Ü., A. Başaran, G. H. Degen, and N. Baaran. 2009. Antioxidant activities of major thyme ingredients and lack of (oxidative) DNA damage in V79 Chinese hamster lung fibroblast cells at low levels of carvacrol and thymol. Food Chem. Toxicol. 47: 2037-2043.
- Viuda-Martos, M., Y. Ruiz-Navajas, J. Fernández-López, and J.A. Pérez-Álvarez. 2010. Effect of orange dietary fiber, oregano essential oil and packaging conditions on shelf-life of bologna sausages. Food Control 21: 436-443.
- Wiseman, J., and F. Salvador. 1991. The influence of free fatty acid content and degree of saturation on the apparent metabolizable energy of fats fed to broiler chicks. Br. Poult. Sci. 30: 653-662.
- Yanishlieva, N. V., E. M. Marinova, M. H. Gordon, and V. G. Raneva. 1999. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipids systems. Food Chem. 64: 59-66.
- Youdim K. A. and S. G. Deans. 1999. Beneficial effects of thyme oil on age-related changes in the phospholipid C20 and C22 polyunsaturated fatty acid composition of various rat tissues. Biochim. Biophys. Acta. 1438: 140-146.
- Young, J. F., J. Stagsted, S. K. Jensen, A. H. Karlsson, and P. Henckel. 2003. Ascorbic acid, α -tocopherol, and oregano supplements reduce stress-induced deterioration of chicken meat quality. Poult. Sci. 82: 1343-1351.

Cuadro 10. Iones utilizados para la cuantificación del timol y el carvacrol en estándares y en la carne de pollo.

Compuesto	TR (min) [DE]	Iones [m/z] de diagnóstico	
		Cuantificación (AR)	Característicos (AR)
Timol	9,93 [0.02]	135 (100)	150(24), 91(15.7), 115(9.1)
Carvacrol	10,07[0.03]	135 (100)	150(31.4), 91(13.1), 136(10.2)

TR = tiempo de retención; DE = desviación estándar; AR = abundancia relativa.

Cuadro 11. Linealidad encontrada en los compuestos estudiados.

Compuesto	Rango ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Ecuación	R^2
Timol	0.01 -19	$Y = 2.92^{\text{exp}006}(X) + 1.29^{\text{exp}007}$	0.994
Carvacrol	0.01 -19	$Y = 2.16^{\text{exp}006}(X) + 2.17^{\text{exp}007}$	0.999

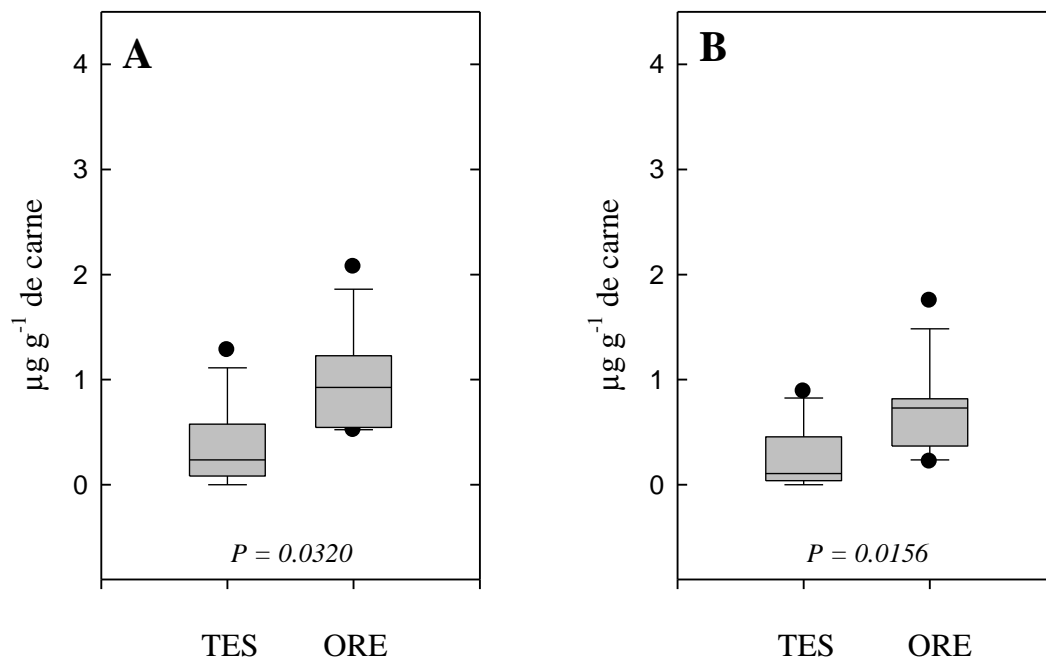


Figura 8. Contenido de timol y carvacrol en *Pectoralis major* de pollos alimentados con aceite de soya crudo. TES: carne de aves que no recibieron aceite de orégano; ORE: carne de aves que recibieron aceite de orégano (100 mg kg^{-1} de alimento). La caja representa el rango intercuartílico, la línea dentro de la caja representa la mediana ($n = 8$). A) Timol determinado en carne de aves alimentadas con aceite de soya crudo y B) Carvacrol determinado en carne de aves alimentadas con aceite de soya crudo. El valor de P está basado en la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney, para la hipótesis nula de que no existen diferencias en la acumulación de timol y carvacrol al adicionar aceite de orégano a la dieta de las aves.

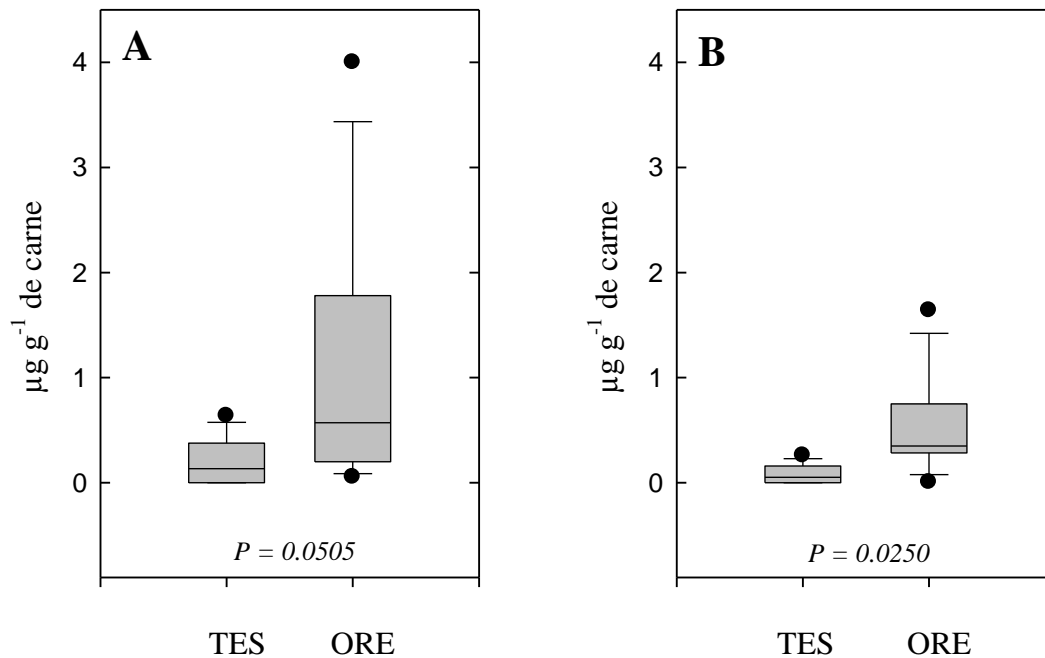


Figura 9. Timol y carvacrol determinado en músculo *Pectoralis major* de pollos alimentados con aceite de soya acidulado. TES: músculo de aves alimentadas sin aceite de orégano; ORE: músculo de aves que recibieron aceite de orégano (100 mg kg^{-1} de alimento). La caja representa el rango intercuartílico, la línea dentro de la caja representa la mediana ($n = 8$). A) Timol determinado en carne de aves alimentadas con aceite de soya crudo y B) Carvacrol determinado en carne de aves alimentadas con aceite de soya acidulado. El valor de P está basado en la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney, para la hipótesis nula de que no hay diferencias en la acumulación de timol y carvacrol al adicionar aceite de orégano a la dieta de las aves.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

1. Conclusiones

La adición de aceite de soya crudo o aceite de soya acidulado no afectan las variables productivas de las aves, ni modifican la composición de los ácidos grasos de la pechuga.

El aceite de orégano tiene efecto antioxidante en carne de aves alimentadas con aceite de soya crudo como fuente concentrada de energía. Pero, al adicionar aceite de soya acidulado su efecto antioxidante disminuye.

Los antioxidantes en el alimento de los pollos o adicionados a la carne, tuvieron efectos similares de estabilidad oxidativa, tanto en carne de pollo refrigerada como congelada.

La miel de abeja adicionada a la carne fue más efectiva que el butilhidroxitolueno para mantener la estabilidad oxidativa en carne refrigerada y congelada.

La vitamina E suplementada en el alimento mantiene la estabilidad oxidativa de la carne más tiempo que el aceite de orégano adicionado por la misma vía y nivel de inclusión.

El timol y carvacrol se acumulan en la pechuga al adicionarse en el alimento.

2. Recomendaciones

Evaluar el mecanismo de acción antioxidante del aceite de orégano al adicionar diferentes fuentes concentradas de energía a la dieta de las aves. Así como su efecto, en la estabilidad oxidativa de la carne.

Continuar evaluando la cantidad de aceite de orégano que se adiciona a la dieta de las aves y la concentración de sus antioxidantes para lograr una estabilidad oxidativa similar a la de la vitamina E.

Plantear experimentos para evaluar el contenido de antioxidante de diferentes tipos de miel producidas en diferentes regiones del país, comparar su capacidad antioxidante *in vitro* y sus efectos sobre la carne para mantener la estabilidad oxidativa y desarrollar productos cárnicos novedosos con alto valor nutricional.

Realizar un estudio sobre las equivalencias de los antioxidantes, con la finalidad de comparar su efectividad al ser utilizados por distintas vías de administración.

Evaluar el nivel de antioxidantes contenidos en el aceite de orégano, cantidad suplementada al alimento, acumulación en fibras musculares, efecto del tiempo de la suplementación y dosis administrada.

Difundir estos resultados en la población, con la finalidad de incrementar la ingestión de antioxidantes naturales, en beneficio de su economía, nutrición y salud.