

# **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS**



**"CALIDAD DE CARNE OVINA MODIFICADA POR REGULACIÓN DE GENES LIPOGÉNICOS AL UTILIZAR HARINA DE AGUACATE EN LA DIETA"**



**I.B.Q. MARÍA ELENA LUNA CASTAÑEDA**

**Tesis presentada como requisito parcial para la obtención del grado de Maestría en Ciencias en el área de Ciencias Zootécnicas y Veterinarias**

Xalisco, Nayarit; Diciembre de 2018

# **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT**

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS



**"CALIDAD DE CARNE OVINA MODIFICADA POR REGULACIÓN DE GENES LIPOGÉNICOS AL UTILIZAR HARINA DE AGUACATE EN LA DIETA"**



**I.B.Q. MARÍA ELENA LUNA CASTAÑEDA**

**DIRECTOR:**

**DR. JAVIER GERMÁN RODRÍGUEZ CARPENA**

**CODIRECTOR:**

**DR. MARIO ESTÉVEZ GARCÍA**

**ASESORES:**

**DR. CLEMENTE LEMUS FLORES**

**DR. FERNANDO GRAGEOLA NUÑEZ**

**M.C. JOB OSWALDO BUGARÍN PRADO**

**Tesis presentada como requisito parcial para la obtención del grado de Maestría en Ciencias en el área de Ciencias Zootécnicas y Veterinarias**

Xalisco, Nayarit; Diciembre de 2018



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS**

CBAP/272/18.

Xalisco, Nayarit; 11 de diciembre de 2018

**ING. JOSÉ ERNESTO VILLANUEVA TREJO**  
**DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR**  
**PRESENTE**

Con base al oficio de fecha 13 de agosto del presente, enviado por los **CC. Dr. Javier German Rodríguez Carpena, Dr. Mario Estevez García, Dr. Clemente Lemus Flores, Dr. Fernando Grageola Núñez y M.C Job Oswaldo Bugarín Prado**, donde se indica que el trabajo de tesis cumple con lo establecido en forma y contenido, y debido a que ha finalizado con los demás requisitos que establece nuestra institución, se autoriza a la **IBQ María Elena Luna Castañeda**, continúe con los trámites necesarios para la presentación del examen de grado de Maestría en Ciencias Biológico Agropecuarias en el Área de Ciencias Zootécnicas y Veterinarias.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

*"Por lo nuestro a la Universidad"*

**Dr. Juan Diego García Paredés**  
Coordinador del Posgrado



C.c.p.- Expediente  
6/jm

Unidad Académica de Agricultura, Carretera Tepic-Compostela Km. 9, C.P. 63780, Xalisco, Nayarit. Tels. (311)2-11-01-28 y 2-11-11-63 Posgrado (CBAP) 2-11-24 78.

Xalisco, Nayarit., 13 de agosto de 2018

**DR. JUAN DIEGO GARCÍA PAREDES**  
**COORDINADOR DEL POSGRADO EN**  
**CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS**  
**P R E S E N T E**

Los suscritos integrantes del Cuerpo Tutorial de la Tesis titulada: "**Calidad de carne ovina modificada por regulación de genes lipogénicos al utilizar harina de aguacate en la dieta**", que presenta la I.B.Q. **María Elena Luna Castañeda** para obtener el Grado de Maestro en Ciencias con opción terminal en Ciencias Zootécnicas y Veterinarias, declaramos que la hemos revisado y determinamos que cumple con los requisitos y condiciones necesarias, por lo que otorgamos nuestra aprobación para que continúe con los trámites correspondientes para la obtención de su grado.

Sin otro asunto que tratar, reciba un cordial saludo.

**A T E N T A M E N T E**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Javier Germán Rodríguez Carpena**  
**Director**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Mario Estévez García**  
**Codirector**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Clemente Lemus Flores**  
**Asesor**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Fernando Grageola Núñez**  
**Asesor**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. Job Oswaldo Bugarín Prado**  
**Asesor**

## DEDICATORIAS

A mis hijos.

A mi madre, hermanas y sobrinos.

A mi Padre, mis queridos abuelos y mis tíos.

A mi querido amigo Germán que hiciste esto realidad.

## **AGRADECIMIENTOS**

Esta tesis si bien ha requerido de mucho esfuerzo y dedicación, no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación de cada uno de los que a continuación mencionaré.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para la realización de la presente investigación.

Al posgrado de Ciencias Biológico Agropecuarias y Pesqueras de la Universidad Autónoma de Nayarit donde realicé el posgrado y donde he recibido apoyo para este proyecto de investigación.

A la Universidad de Extremadura por permitir mi estancia de maestría y capacitarme en ciencia y tecnología de la carne, de igual manera al grupo de doctores que me brindaron enseñanzas y conocimientos en especial al Dr. Mario Estevéz. Muchas gracias por todo.

A mi comité tutorial: Dr. Javier Germán Rodríguez Carpena, Dr. Mario Estévez García, Dr. Clemente Lemus Flores, Dr. Fernando Grageola Nuñez y M.C. Job Oswaldo Bugarín Prado. Por compartir sus conocimientos y por guiarme en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Debo un agradecimiento especial a mi Director de Tesis, al Dr. Javier Germán Rodríguez Carpena por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica sobre todo por la confianza, afecto y amistad, fundamentales para la concreción de este trabajo.

Al Centro Nayarita de Innovación y Transferencia de Tecnología (CENIT<sup>2</sup>) y quienes lo conforman, en especial al Dr. Emilio Peña Messina, Yudit, Magui y Jessica.

A cada uno de los que conforman la UECAYPN gracias por su gran apoyo y por cada uno de los momentos de compartidos a su lado. Principalmente a la Dra. Gaby

Ávila Villareal y a todos sus niños, a cada uno de los chicos que han estado en este laboratorio y en especial a Pedro, Paulina, Belén, Raciél, Cassandra, Alma, Gilberto, Paola, Victoria, Lupita, Leslie, Candy, José, Valeria, Mary, Gibran, Oscar, Polet, Clarissa, Ricardo, Isabel y Tania. Ya que hayan contribuido a la realización de este proyecto o a mi formación como profesionista y ser humano.

A mi querida Madre Lolita que sin su apoyo y amor no estaría culminando esto, lo mismo que mis maravillosas hermanas Lolita y Roxana las amo a las tres. A mis hijos Elías, Ana Paula y David mi motor para estar aquí y seguir persiguiendo mis sueños. A mis cuñados Salvador y Horacio que se han convertido en mis hermanos y me han dado mucho apoyo y cariño, lo mismo mis hermosos sobrinos Sofía, Salvador, Fernanda y Daniel su alegría y amor no se paga con nada. Mi gran agradecimiento a mi Padre Ignacio a mi tía Martha y tío Toño por su gran cariño y apoyo de siempre a mis primos Antonio, Martha, Coco, Arturo, Daniel y Luly mi agradecimiento y cariño.

A mis amigos que estuvieron ahí para escuchar y darme ánimos en cada uno de mis avances y tropiezos en la realización de este proyecto es especial a Dalia, Cuquis, Flor, Ana, Adriana, Rosy, Lorena, Nonantzy, Yesenia, Javier, Martha Elena, Aide, Teresa, Emma, Francia, Claudia, Héctor y Delia.

A todos aquellos que brindaron su apoyo, su tiempo y paciencia para conmigo y sobre todo para el termino de este proyecto.

¡GRACIAS!

## ÍNDICE

	Pág.
Oficio de aprobación.....	ii
Oficio de conformidad de Comité Tutorial.....	iii
DEDICATORIAS.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
ÍNDICE.....	vi
LISTA DE CUADROS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Hipótesis.....	4
1.2 Objetivo general.....	4
1.2.1 Objetivos específicos.....	4
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>5</b>
2.1 El aguacate y su uso en la alimentación animal.....	5
2.2 Calidad de la carne.....	8
2.2.1 Antioxidantes en la carne.....	9
2.3 Estabilidad oxidativa de la carne.....	13
2.3.1 Estabilidad oxidativa del color.....	16
2.3.2 Análisis de la oxidación lipídica.....	17
2.4 Evaluaciones sensoriales de la carne.....	19
2.5 Expresión de genes del metabolismo lipídico.....	21
2.5.1 Genes y sus características.....	25
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
3.1 Ubicación.....	28
3.2 Diseño experimental.....	28
3.3 Evaluaciones para determinar la calidad de la carne.....	29
3.3.1 Caracterización químico proximal.....	29
3.3.2 Cuantificación de grasa total intramuscular.....	29
3.3.3 Evaluación de pH.....	30
3.3.4 Capacidad de retención ó pérdida por goteo.....	30

3.3.5	Análisis del perfil de ácidos grasos.....	30
3.3.6	Determinación del color de la carne.....	31
3.4	Elaboración de sistemas modelo.....	32
3.4.1	Preparación de muestra para determinar la estabilidad oxidativa.....	33
3.4.2	Análisis de estabilidad oxidativa del color.....	33
3.4.3	Determinación de productos secundarios de la oxidación de lípidos por la técnica de TBA-RS.....	33
3.5	Evaluación sensorial.....	34
3.6	Expresión de genes del metabolismo lipídico.....	36
3.6.1	Toma de muestras para evaluar la expresión de los genes PPARG, SCD, FASN, ACACA, FASBP3 y SREBF1.....	36
3.6.2	Análisis de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	37
3.6.3	Análisis de la expresión génica mediante PCR-RT.....	38
3.6.4	Análisis de los datos para la obtención de la expresión relativa de los genes.....	39
3.7	Análisis estadístico.....	40
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>41</b>
4.1	Estabilidad oxidativa del color en hamburguesas de ovino, Crudas.....	41
4.1.1	Estabilidad oxidativa del color en hamburguesas de ovino, cocinadas.....	44
4.2	Análisis de metabolitos secundarios de oxidación de lípidos por TBA-RS.....	48
4.3	Contenido de ácidos grasos.....	51
4.4	Evaluaciones sensoriales.....	56
4.5	Expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico.....	58
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>61</b>
<b>VI.</b>	<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>62</b>

## LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Dietas formuladas para la alimentación de ovinos.....	29
Cuadro 2. Formulación para la elaboración de sistemas modelo tipo hamburguesa de carne de ovino.....	32
Cuadro 3. Perfil de ácidos grasos de las dietas utilizadas en la alimentación de los ovinos.....	52
Cuadro 4. Determinaciones químico proximales de la carne de ovinos empleados en el experimento.....	53
Cuadro 5. Determinación del perfil de ácidos grasos de la carne de ovinos empleados en el experimento.....	54
Cuadro 6. Resultados de la expresión de los distintos genes evaluados en carne de ovinos alimentados con la adición de harina de aguacate o aceite de girasol en la dieta .....	59

## LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Frutos de aguacate ( <i>Persea americana</i> Mill) variedad Hass..	7
Figura 2. Borregos de raza Pelibuey en sistema estabulado.....	8
Figura 3. Evolución a lo largo de 12 días de almacenamiento en refrigeración de la luminosidad superficial de sistemas modelo crudos de ovinos.....	41
Figura 4. Evolución de los valores de b* (+ amarillo), durante la medición del color superficial de las hamburguesas crudas de ovinos a través de 12 días en almacenamiento en refrigeración a 3 °C con luz.....	42
Figura 5. Evolución del color rojo (a*+ ), en hamburguesas crudas de ovinos.....	43
Figura 6. Evolución de la luminosidad superficial en hamburguesas de ovino sometidas a proceso de cocción durante un periodo de almacenamiento en refrigeración de 12 días.....	45
Figura 7. Evolución de los valores de b* (+ amarillo), durante la medición del color superficial de las hamburguesas de ovinos sometidas a proceso de cocción.....	46
Figura 8. Evolución del color rojo (a*+=) en hamburguesas de ovinos sometidas a cocción y posteriormente almacenamiento en refrigeración.....	47
Figura 9. Evolución de la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en hamburguesas crudas de ovinos y posterior almacenamiento en refrigeración durante 12 días.....	49
Figura 10. Evolución de la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en hamburguesas cocinadas de ovinos y posterior almacenamiento en refrigeración.....	51
Figura 11. Resultados apariencia, olor, dureza en boca y sabor en hamburguesas de ovinos.....	57

## I. INTRODUCCIÓN

El término carne se utiliza para definir todas las partes de los animales de abasto que sirven como alimento al hombre, una vez que ya fue sacrificado el animal. El hombre ha empleado durante muchos siglos los tejidos animales como alimento y actualmente se ha buscado métodos que controlen la cantidad y la uniformidad del producto final. Esto ha llevado a investigar las causas de variación de la calidad de la carne con miras a una mejora, de ahí la importancia de la evaluación de la calidad de la carne que puede ser definida como el conjunto de características que le da al producto cárnico un mayor grado de aceptación y un mayor precio frente a los consumidores o frente a la demanda del mercado (Suman y Joseph, 2013).

No existe una definición simple de calidad de carne usada actualmente. La calidad de la carne es una combinación de medidas subjetivas y objetivas, las cuales varían entre los mercados, particularmente en los mercados internacionales. Algunas de estas medidas más comunes usadas en la determinación de calidad de carne son: color, pH, capacidad de retención de agua, terneza y grasa intramuscular (marmoleo). A medida que la industria establece patrones más rigurosos sobre la calidad de carne, esta se torna mucho más importante para todo el segmento de producción de animales (Mancini y Hunt, 2005).

Por el momento, los factores más importantes y prácticos que determinan la calidad de la carne en los animales de abasto son el color y el pH, que son utilizados para determinar las categorías de calidad. Otra cualidad de calidad son los atributos sensoriales, estos son las características que percibimos por los sentidos en el momento de la compra o del consumo y que influyen en nuestra satisfacción personal (color, textura, terneza, jugosidad, sabor y aroma). La mayoría de las cualidades que presenta la carne son inherentes al animal y a su sistema de producción. La carne es el resultado de una gran cantidad de factores intrínsecos y extrínsecos que han sido ampliamente estudiados; con respecto a los factores extrínsecos, uno de los más influyentes es la nutrición, donde la calidad y

composición nutricional de los ingredientes y su formulación en las dietas de los animales monogástricos determina una calidad diferenciada de la carne (Mancini y Hunt, 2005).

La alimentación es el principal factor que afecta la calidad de los productos de ovinos (leche y carne). Se necesitan encontrar las estrategias de alimentación útiles para aumentar los niveles de ácidos grasos saludables (FA), como el ácido linoleico conjugado y el ácido graso omega-3, en la leche y la carne en la dieta humana. La adición de suplementos ricos en aceites, el nivel y la calidad del forraje parecen ser herramientas valiosas para influir en la composición de ácidos grasos de la leche y la carne. También se discute el uso de recursos alimenticios alternativos, ricos en compuestos fenólicos, en las dietas de ovinos y sus efectos sobre la composición FA de la carne y la estabilidad oxidativa (Manso *et al.*, 2016).

Se ha demostrado que la calidad de la carne se ve modificada por la inclusión de ingredientes, sobre todo, con alto contenido de ácidos grasos insaturados en la dieta de animales de interés zootécnico (Hernández, 2016).

En este sentido, se han realizado pocas investigaciones en las que han utilizado subproductos de aguacate como un ingrediente no convencional en la dieta de algunas especies animales (cerdos, ovinos, aves) destinados al consumo humano, reportando en la mayoría efectos en digestibilidad y evaluación de parámetros productivos, pero pocos hacen referencia a la modificación de la calidad de la carne hacia parámetros más nutritivos y saludables por la inclusión de aguacate en la dieta (Skenjana *et al.*, 2006; Grageola, 2009; Fránquez, 2013; Van Ryssen *et al.*, 2013; Hernández-López *et al.*, 2016).

En Nayarit, se acondiciona y selecciona el fruto del aguacate para su venta a los mercados locales y se destina la mayor parte para exportación; sin embargo, alrededor de 54% de la producción son desperdiciadas. Lo anterior se debe a que el producto no cumple con normas de exportación o perece por mal manejo a lo

largo de su trayecto desde las huertas a las empacadoras. Los expertos locales estiman en términos conservadores, que más del 10% de la producción de aguacate no tiene un uso alguno y son desechados como basura (Avilés-Ríos, 2009; FAO, 2014).

Estos frutos a pesar de no cumplir con esos parámetros de calidad para su venta al público consumidor, conservan todas sus características y pueden ser aprovechados para otros fines (Fránquez, 2013).

El Estado de Nayarit es uno de los principales productores de aguacate del País, siendo Xalisco y Tepic, los municipios con mayor producción y con un número considerable de empresas empacadoras que acopian, seleccionan y comercializan los frutos que cumplen con los requisitos de calidad para su venta al público; sin embargo, durante los procesos de selección de los frutos, quedan muchos que no cumplen con esos estándares y tienen que ser desechados. Estos aguacates a pesar de ser considerados como desecho por las compañías empacadoras, solo presentan alteraciones o deficiencias físicas, pero conservan todas las cualidades nutritivas y bioactivas que caracterizan al fruto; en este sentido, los aguacates de desecho pueden ser aprovechados como ingrediente en la dieta de animales de interés zootécnico y mejorar los parámetros productivos, la calidad nutritiva y sensorial de los productos de origen animal.

## **1.1 Hipótesis**

La adición de harina de aguacate como ingrediente en la alimentación de ovinos, modificará la regulación genética del metabolismo de lípidos expresando en la carne una mejor calidad nutritiva y sensorial.

## **1.2 Objetivo general**

Evaluar la expresión de genes involucrados en el metabolismo lipídico y sus efectos en la calidad de la carne al utilizar harina de aguacate como ingrediente en la dieta de ovinos.

### **1.2.1 Objetivos específicos**

- Evaluar la estabilidad oxidativa del color y lípidos en carne de ovinos alimentados con harina de aguacate como ingrediente en la dieta.
- Evaluar las propiedades sensoriales de carne de ovinos alimentados con harina de aguacate como ingrediente de la dieta.
- Evaluar el efecto del uso de aguacate, como ingrediente en la alimentación ovina, en la expresión y regulación de genes relacionados con el metabolismo lipídico y su impacto en la calidad de la carne.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 El aguacate y su uso en la alimentación animal

El árbol del aguacate pertenece a la familia *lauraceae* y se clasifica como *Persea americana*. Es nativa del centro de México, son plantas exóticas que son rápidas para crecer, de hoja perenne con masas de hojas verde oscuro. El aguacate tiene forma de huevo o esférica, cuya carne tiene la consistencia de la mantequilla firme y gran sabor cuando está maduro. Es una convicción firme vincular la alimentación y la salud. Así, los alimentos que sanan o previenen la enfermedad deben ser primordiales de la alimentación (Gouegni y Abubakar, 2013).

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es una de las pocas frutas cultivadas que contienen grandes cantidades de ácidos grasos insaturados (Soliva *et al.*, 2011). Las altas concentraciones de ácidos grasos monoinsaturados y otros fitoquímicos considerados como compuestos bioactivos, hacen del aguacate una fruta muy saludable y nutritiva (Yahia y Woolf, 2011).

En cuanto al contenido de minerales, el aguacate es especialmente rico en potasio, magnesio y bajo en sodio (Pérez *et al.*, 2005; Azizi y Najafzadeh, 2008). Debido a su potencial nutritivo, el aguacate es conocido por ser una excelente fuente de ácidos grasos insaturados, tocoferoles y otros fitoquímicos con efectos biológicos positivos (Wang *et al.*, 2010).

Se han realizado numerosas investigaciones donde han centrado a los subproductos del aguacate como fuentes de ácidos grasos o esteroides de interés biológico (Werman y Neeman, 1986) o en la presencia de compuestos fenólicos y pigmentos con actividad antioxidante (Lu *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2010; Villa-Rodríguez *et al.*, 2011; Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011). Recientemente se reportó que los extractos de semillas o cáscara de aguacate muestran capacidad captadora de radicales libres y una alta actividad antioxidante; conjuntamente se

reporta una excelente actividad antimicrobiana (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013; Calderón *et al.*, 2016).

El análisis del extracto de los frutos de aguacate reveló la presencia de cantidades considerables de vitaminas A, B<sub>2</sub>, C, K, ácido fólico, luteína, zeaxantina, coenzima Q10 y beta-caroteno. Cuando se administraron extractos de frutos de aguacate de manera experimental a ratas Wistar para estudios de toxicidad aguda, los animales no mostraron ningún signo de toxicidad incluso cuando se administraron dosis grandes. Se encontró que el extracto disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ) la actividad de las enzimas hepáticas y cardíacas en los animales tratados en comparación con el testigo. El extracto disminuyó el colesterol total (TC) en un 37.97%, triglicéridos en 37.87%, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en 47.41%, lipoproteínas de baja densidad (LDL) en 59.57% y al mismo tiempo aumentó las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en un 3.64%. El extracto también disminuyó el tiempo de protrombina (PT). Estos resultados se discuten como preventivos y posibles valores curativos de este extracto como potencial inhibidor de las enfermedades cardiovasculares y en la regulación del tiempo de coagulación de la sangre debido a su importante contenido de vitamina K (Gouegni y Abubakar, 2013).

Con una producción histórica de casi dos millones de toneladas de aguacate en el año 2017, México se consolida como el principal generador de este fruto a nivel mundial, con presencia en mercados de Europa, Asia, Australia, así como en Norte, Centro y Sud América, por más de 2,710 millones de dólares de enero a noviembre (SAGARPA, 2017).

A nivel nacional, Michoacán es el mayor productor, los cuales son de excelente calidad; por lo que casi todos se destinan a la exportación principalmente a países como Francia, Canadá, Japón y Estados Unidos de Norteamérica. Por su parte, Nayarit es un importante productor nacional, con una producción de 39,148.73 t y son los municipios de Xalisco y Tepic los mayores productores de aguacate, la

variedad Hass es la que se exporta como se puede observar en la Figura 1 (SAGARPA, 2017).



Figura 1. Frutos de aguacate (*Persea americana* Mill) variedad Hass.

Debido a los atributos benéficos del aguacate, en algunos trabajos se ha propuesto la adición de aguacate en la dieta de animales (Skenjana *et al.*, 2006; Grageola, 2009; Fránquez, 2013; Van Ryssen *et al.*, 2013; Hernández, 2016).

En un trabajo reportan que se alimentaron borregos a base del residuo posterior a la extracción del aceite de aguacate y aceite de macadamia; se concluyó que la harina de aguacate residual de la extracción del aceite, aun sin el aceite, se consideró con una alta degradabilidad y se sugirió su uso para raciones económicas, como una fuente de energía para rumiantes (Skenjana *et al.*, 2006).

La carne ovina es un producto de importancia mundial, esta se obtiene de una amplia gama de sistemas de producción que pueden determinar la calidad muscular, la composición de la carne y las características nutricionales; además, aporta una buena cantidad de vitaminas, minerales y ácidos grasos poliinsaturados esenciales. La cría de animales y la nutrición animal como en este caso el uso de harina de aguacate, juegan un papel importante en la mejora de los rasgos de calidad de la carne de borregos, garantizando con ello que éstos se conserven hasta el consumo sin perder sus cualidades, en conjunto con un buen procesamiento, como se observa en la Figura 2 'de la granja a la mesa' (Ponnampalm *et al.*, 2016).



Figura 2. Borregos de raza Pelibuey en sistema estabulado.

## 2.2 Calidad de la carne

Desde una perspectiva bromatológica, la carne es el resultado de la transformación del tejido muscular de los animales de abasto a través de una serie de procesos físico-químicos y biológicos que se suceden tras la muerte del animal. La carne está compuesta por la parte blanda y comestible de distintas especies animales y está formada principalmente por los tejidos muscular, adiposo y

conjuntivo. Los componentes mayoritarios de la carne son agua (65-80%), proteínas (16-22%) lípidos o grasa (3-13%) y en menor proporción sustancias nitrogenadas no proteicas, glucógeno, ácido láctico, minerales y vitaminas (Cambero *et al.*, 2005).

El sabor es la impresión sensorial detectada por el gusto y el olfato, este es un factor importante para determinar la calidad de la carne y la decisión de compra del consumidor. El sabor de la carne es característico de las sustancias volátiles producidas como resultado de reacciones térmicas. Los factores como raza, sexo, edad, alimentación, junto con tratamiento *pre* y *post mortem* son los que determinan la calidad de la carne (Issa *et al.*, 2015).

En general, cuando se hace referencia a la calidad de la carne, inmediatamente se piensa en variables como suavidad, color, jugosidad, sabor, aroma y vida útil. Entre los atributos que más influyen en la satisfacción del consumidor destacan la suavidad de la carne (terneza), la jugosidad y el sabor de la carne cocida. Todas estas características se logran durante el proceso de producción al buscar ajustarse a las expectativas del consumidor final. Este proceso va desde la engorda del ganado hasta la comercialización de los productos obtenidos en la forma en que el consumidor los requiera (León y Carrasco, 2012).

### **2.2.1 Antioxidantes en la carne**

La carne es una fuente de nutrimentos, es un alimento que proporciona alta calidad de proteínas, minerales, vitaminas y muchos otros micro nutrimentos. El consumo de carne, en particular de la carne roja (carne de res, cerdo y cordero), se remonta a la antigüedad y por lo general sigue siendo un estilo de vida dominante ya que es nutricionalmente indispensable en la sociedad moderna. Sin embargo, a pesar de los abrumadores beneficios nutricionales, el consumo de carne roja y grasa animal se ha relacionado con enfermedades coronarias y varios tipos de cáncer. Por el mecanismo subyacente de la generación de toxinas (carcinógenos y mutágenos) por procesos oxidativos durante el almacenamiento o

las operaciones como el curado, el ahumado, la fermentación y el tratamiento térmico (McAfee *et al.*, 2010).

Los recientes avances en la investigación antioxidante han permitido a los científicos de la carne pensar en la posibilidad de mitigar las toxinas químicas de los productos cárnicos mediante diferentes estrategias, por ejemplo, condiciones de tratamiento térmico para reducir la formación de toxinas, bioaccesibilidad, tecnología de restricción e intervenciones antioxidantes (Engel *et al.*, 2015).

Este último es de particular interés porque se cree que muchas de las reacciones involucran radicales libres en los que las especies reactivas de oxígeno (ROS) están particularmente implicados. Los antioxidantes mayormente actúan estabilizando un radical libre a través de la donación de un electrón, o bien, de un átomo de hidrogeno; ciertos antioxidantes pueden actuar inhibiendo la formación de especies pro-oxidantes favoreciendo la remoción de tales especies o bien facilitando la reducción de aquellos sustratos biológicos que hayan sido ya blanco de oxidación. Mientras que los antioxidantes sintéticos, tal como hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), galato de propilo (PG) y butilhidroquinona terciaria (TBHQ), se han utilizado durante mucho tiempo para inhibir la destrucción que causa o puede causar la muerte por envenenamiento inducida por la oxidación. Se sabe que los antioxidantes sintéticos cuando se aplica en alta dosis pueden ser cancerígenos, aunque hay mucha menos evidencia documentada indicando los efectos adversos de los antioxidantes naturales. No solo los antioxidantes naturales son capaces de neutralizar los ROS reduciendo por lo tanto la probabilidad de formación de toxinas; si no que, cuando se utilizan en la formulación del producto, también podrían aumentar los antioxidantes existentes, incluso, si la carne no está sometida a un tratamiento extensivo (Balogh *et al.*, 2000).

Este beneficio añadido de salud y nutrición podría ser una ventaja distintiva de los antioxidantes naturales aplicados al procesamiento de la carne ya que los cambios en la carne, están bajo creciente escrutinio debido a los efectos genotóxicos potenciales. Los agentes físicos (temperatura, luz ultravioleta, radiaciones ionizantes, radiaciones electromagnéticas, etc.) o productos químicos (agentes alquilantes, acridina, oxidantes, agentes redox, epóxidos alifáticos, etc.) son capaces de alterar la información genética celular; Por lo tanto, la tendencia industrial actual se ha desplazado hacia los antioxidantes naturales derivados de diversas plantas que son ricos en polifenoles que eliminan los radicales (Shahidi *et al.*, 1992).

En el aguacate existe la presencia de compuestos fenólicos y pigmentos con actividad antioxidante (Lu *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2010; Villa-Rodríguez *et al.*, 2011; Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011).

En forma natural, hay sustancias que evitan la autooxidación, como la lecitina, los tocotrienoles y los tocoferoles (vitamina E). También el pigmento cárnico dinitrosil ferrocromo en la carne de cerdo actúa como antioxidante. Los derivados de las reacciones de Maillard (carbonilos reductores) inhiben la oxidación de la carne. Los antioxidantes sintéticos son propiamente donadores de protones, no detienen la formación de radicales si no que reaccionan con ellos, los estabilizan y producen radicales antioxidantes menos activos (Stauffer, 1996).

También se han desarrollado antioxidantes de origen natural a partir de la hidrólisis enzimática de la proteína (péptidos) y la reticulación de pequeñas moléculas en antioxidantes anfifílicos (son aquellas moléculas que poseen un extremo hidrofílico, es decir, que es soluble en agua y otro que es hidrófobo, lo cual significa que rechaza el agua) adecuados para la interfase en emulsiones, espumas, etc. (Elias *et al.*, 2008; Xiong, 2010).

Las frutas en general son buenas fuentes de antioxidantes. Las manzanas, arándanos, ciruelas, uvas y granadas tienen concentraciones relativamente altas de flavonoides. Se han preparado purés y extractos de estas frutas para usos industriales y su actividad antioxidante ha sido bien documentada (Brewer, 2011; Shahidi *et al.*, 2015; Karre *et al.*, 2013).

Este beneficio añadido de salud y nutrición podría ser una ventaja distintiva de antioxidantes naturales aplicados al procesamiento de la carne y también las estrategias antioxidantes, incluyendo las aplicadas en la alimentación a los animales para aumentar la reserva de antioxidantes en el tejido muscular y las formulaciones de productos cárnicos, para mejorar la salud y los beneficios nutricionales de la carne y de los productos cárnicos. El enfoque está en la inhibición de la formación de toxinas y la mejora del estado nutricional de productos cárnicos por antioxidantes naturales. En algunos trabajos se analizó el potencial antioxidante y los efectos de varios zumos de frutas y extractos de plantas en aves de corral; otros, revisaron el papel protector de varios extractos vegetales en la estabilidad oxidativa de la carne. Algunos describen las tendencias recientes en el uso de antioxidantes naturales para la carne, su calidad y protección de los productos cárnicos (Karre *et al.*, 2013; Shah *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2015).

Los antioxidantes naturales se producen en las células vivas para mantener un delicado balance de oxidación-reducción en el proceso de metabolismo de nutrientes y la función inmune. Tras el estrés oxidativo, los antioxidantes reaccionan con especies radicales y no radicales para iniciar mecanismos de defensa para la protección tanto de componentes intracelulares como extracelulares. El reino vegetal es la fuente más abundante de antioxidantes, que es rica en especias, hierbas y aceites esenciales utilizados en productos cárnicos para usos organolépticos. Ciertas frutas y verduras son también buenas fuentes de antioxidantes y otros fitoquímicos, muchas de las hojas de los árboles, aunque

no se utilizan para aromatizar, son también buenas fuentes de compuestos fenólicos (Jiang y Youling, 2016).

Para los animales productores de carne, los antioxidantes naturales añadidos a los alimentos no sólo pueden mejorar la estabilidad oxidativa y las propiedades organolépticas, sino que también pueden mejorar el valor nutricional de los productos cárnicos. Recientemente, ha aumentado el interés por complementar los piensos con extractos de plantas antioxidantes o materiales vegetales antioxidantes crudos para impulsar el valor nutricional de la carne para beneficiar la salud de los consumidores (Kasapidou *et al.*, 2012; Lynch *et al.*, 1999; Phillips *et al.*, 2001).

### **2.3 Estabilidad oxidativa de la carne**

Los mercados a los que se destinan los productos cárnicos presentan exigencias específicas en cuanto a la calidad sensorial de los mismos, consecuentemente el conocimiento de la estabilidad oxidativa de estos es crucial para garantizar su calidad organoléptica. Desde el punto de vista nutricional, la oxidación lipídica puede mermar sustancialmente componentes fundamentales de la carne; así, la oxidación lipídica está relacionada con la disminución en el aporte de ácidos grasos esenciales, de vitaminas sensibles a los procesos oxidativos, como la vitamina E y A o el ácido ascórbico; así como con la pérdida de aminoácidos esenciales, los productos de oxidación de los lípidos pueden interaccionar con ellos produciendo cambios en su estructura. Otro factor fundamental relacionado con la oxidación de los lípidos, es la formación de productos tóxicos o con efectos biológicos adversos durante los procesos tecnológicos o durante su conservación (García-Cruset *et al.*, 2002; Leonarduzzi *et al.*, 2002; Petrón, 2002).

En las personas sanas, la mayoría de los ácidos grasos consumidos en la dieta están disponibles para los tejidos a través de procesos eficientes de digestión, absorción y deposición (Calder, 2015).

Además de ser una importante fuente de energía en el cuerpo humano, los ácidos grasos tienen otros papeles biológicos, incluida la regulación de la estructura y función de la membrana celular, regulación de vías de señalización intracelular, actividad de factores de transcripción, expresión génica y regulación de la producción de mediadores lipídicos bioactivos. El ácido linoleico conjugado es un tipo de ácido graso trans-isomérico que ha demostrado tener diversos efectos beneficiosos para la salud. La forma estructural natural más común de ácido linoleico conjugado es la configuración isomérica 9c (cis), 11t (trans); que se encuentra comúnmente en los tejidos y leche de los rumiantes, se forma a partir de la isomerización del ácido linoleico por las bacterias ruminales *Butyrivibrio fibrisolvens* (Calder, 2015).

En el pasado, científicos y comunicadores describieron los efectos biológicos y los impactos en la salud de los ácidos grasos basados en grupos es decir, ácidos grasos saturados (SFA), ácidos grasos monoinsaturados-cis (c-MUFA), ácidos grasos monoinsaturados-trans (t-MUFA), ácido graso linoleico conjugado (CLA), ácido graso CLnA, ácidos grasos poliinsaturados n-3 PUFA y n-6 PUFA. Sin embargo, las investigaciones recientes han demostrado que cada uno de los ácidos grasos individualmente o dentro de un grupo/clase tiene diferentes acciones y efectos (Calder, 2015; Mapiye *et al.*, 2015; Vahmani *et al.*, 2016).

La oxidación de músculos y productos cárnicos es una preocupación principal entre los tecnólogos de alimentos, se considera una causa importante de deterioro en la calidad de los alimentos musculares. La degradación oxidativa de los ácidos grasos implica varios mecanismos moleculares que conducen a la generación de precursores ricos en oxígeno de radicales libres reactivos que propagan la cadena. Inicialmente, el oxígeno ataca el doble enlace en ácidos grasos para formar enlaces de peróxido; por lo tanto, los fosfolípidos musculares, que contienen un alto contenido de ácidos grasos insaturados (principalmente los ácidos linoleico y araquidónico), son particularmente susceptible a la oxidación. De hecho, la susceptibilidad de los componentes musculares a la oxidación y el

deterioro se debe principalmente a las altas concentraciones de ácidos grasos insaturados y a los pigmentos heme y catalizadores metálicos. La presencia de antioxidantes en la dieta de animales puede retardar la oxidación y conservar las propiedades fisicoquímicas de la carne (Estévez *et al.*, 2008).

En el pasado se ha estudiado el efecto de adicionar vitamina E y selenio como antioxidantes en la carne con resultados alentadores. Sin embargo, su elevado costo representa una limitante en su uso, por lo que recientemente se ha referido al uso de otras fuentes de antioxidantes, como es el caso de los taninos, que ha sido reportado que ejerce un efecto antioxidante en la carne (Priolo y Vasta, 2007; Luciano *et al.*, 2009).

También se están utilizando compuestos fenólicos y polifenólicos presentes en las plantas que son de gran interés debido a sus propiedades antioxidantes. Cuando se añaden a los alimentos controlan el desarrollo de la rancidez ya que retardan la formación de productos de oxidación que algunos pueden llegar a ser tóxicos, mantienen la calidad nutricional y extienden la vida útil de los productos cárnicos (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011; Shahidi y Ambigaipalan, 2015).

Desde hace décadas existen numerosas evidencias científicas sobre la mejora de la estabilidad oxidativa de la carne mediante la incorporación de antioxidantes ingeridos en la dieta, ya sean añadidos en el alimento u obtenido de los recursos naturales (Cadenas *et al.*, 2006; Andersen *et al.*, 2003; Cava *et al.*, 2003).

Estas mejoras en la estabilidad oxidativa de la carne adquieren una mayor importancia cuando los animales son alimentados con dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados, como consecuencias de estrategias que tienen como objetivo mejorar las características tecnológicas y especialmente nutricionales de la carne (Cava *et al.*, 1997; Andrés *et al.*, 2008).

Sobre los atributos que dan los antioxidantes en la calidad de la carne Hanczakowska *et al.* (2015), encontraron que al incluir los antioxidantes en la dieta se mejoró significativamente la estabilidad oxidativa, disminuyó el colesterol y aumentó la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados en la carne de cerdos.

La evidencia de estudios recientes sugiere que los radicales libres son los responsables de la formación de toxinas y los antioxidantes han demostrado ser prometedores para mitigar los riesgos químicos de los productos generados. Por lo tanto, las implicaciones de la oxidación de lípidos y de las proteínas en la calidad de la carne, en la nutrición, en la seguridad y las propiedades organolépticas se deben tomar en cuenta; por eso, se proponen algunas estrategias de producción animal y procesamiento de carne en las que se incorporan antioxidantes naturales para mejorar los beneficios nutricionales y de salud de la carne. La aplicación de los antioxidantes naturales mezclados o purificados para eliminar o minimizar la formación de carcinógenos para la seguridad química de las carnes cocidas y procesadas es uno de los retos actuales (Jiang y Youling, 2016).

### **2.3.1 Estabilidad oxidativa del color**

Es más importante para el color el "estado físico" de las proteínas que la cantidad de pigmento; por tanto, manteniendo la oximioglobina o reduciendo la metamioglobina (MetMb) se puede extender la vida útil de la carne fresca. En este sentido ha resultado más interesante, a efectos de la medición del color, la utilización de tecnologías para prolongar la vida media del color de la carne fresca. La industria de la carne ha reconocido la importancia de la estabilidad del color, por lo que se han establecido distintas estrategias para conservar el color deseable en la carne y productos cárnicos. Una de ellas son las recientes innovaciones para modificar la atmósfera de envasado y los recubrimientos, surgidos de la necesidad de extender la vida media de la carne. En este sentido, han realizado investigaciones sobre el uso de películas protectoras (Kuuliala *et al.*, 2015).

También se ha probado el uso de extractos de origen vegetal con potencial antioxidante aplicado a la carne o productos cárnicos con el objetivo de retardar la pérdida del color rojo de la carne (Rodríguez, 2011; Hanczakowska *et al.*, 2015).

Otra estrategia empleada para retardar la formación de MetMb en la carne, es la utilización de distintos compuestos antioxidantes en la dieta de animales de abasto. En este sentido, se ha reportado que la suplementación de tocoferoles o compuestos fenólicos de productos del reino vegetal en la dieta de cerdos (Gerber *et al.*, 2006; Inserra *et al.*, 2015) y ovinos (Urrutia *et al.*, 2015; Zong *et al.*, 2015).

### **2.3.2 Análisis de la oxidación lipídica**

Los procesos de oxidación lipídica son uno de los principales factores que deterioran la calidad de la carne y productos cárnicos, debido a que reduce su vida útil, su calidad nutricional y sensorial promoviendo la generación de compuestos potencialmente tóxicos para la salud del consumidor (Andersen *et al.*, 2003).

De igual modo, la oxidación de los lípidos puede modificar sensiblemente las características del color de la carne y los productos cárnicos, como consecuencia de la relación existente entre la oxidación y la conformación química de los pigmentos hemínicos. En este sentido, los radicales libres originados durante la oxidación de los lípidos pueden actuar como pro-oxidantes favoreciendo la formación y acumulación de metamioglobina, que no es deseable desde el punto de vista del color de la carne (Gray *et al.*, 1996; Frankel, 1998).

Uno de los principales efectos adversos de la oxidación de los lípidos es la alteración del aroma y del flavor de los alimentos, debido principalmente a la generación de los productos secundarios de oxidación, principalmente compuestos volátiles con connotaciones rancias. Los productos de oxidación secundarios de la oxidación lipídica se forman a partir de la descomposición de los hidroperóxidos de los ácidos grasos. Como se ha indicado anteriormente, la

descomposición de estos compuestos primarios de oxidación genera una gran variedad de compuestos secundarios, algunos volátiles y otros no (Ganhão *et al.*, 2011).

Los lípidos de los alimentos son susceptibles a la oxidación y como tales, se requieren protocolos analíticos para medir su cantidad y calidad. Existen muchos métodos analíticos para medir el estado oxidativo de la carne y productos cárnicos, que van desde evaluaciones sensoriales simples hasta métodos químicos más complejos. Los métodos químicos pueden clasificarse en dos grupos de acuerdo a lo que miden; cambios oxidativos primarios y oxidación secundaria que es la determinación de productos de oxidación secundaria precedente de la oxidación primaria (Estévez *et al.*, 2008).

El índice del ácido tiobarbitúrico (TBA) ha sido tradicionalmente la técnica analítica más utilizada para determinar estos compuestos secundarios de la oxidación de la carne y los productos cárnicos. Este método analítico evalúa la extensión de la oxidación lipídica en función de la cuantificación del compuesto malondialdehído (MDA) y otros compuestos similares denominadas en su conjunto sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Ganhão *et al.*, 2011).

El grado de oxidación de los lípidos en los alimentos musculares se determina comúnmente mediante el seguimiento de MDA, la prueba de TBA es una técnica colorimétrica en la que se mide la absorbancia de un cromógeno rojo formado entre TBA y el MDA. El MDA se considera la principal sustancia reactiva al TBA, aunque otros productos de oxidación tales como los  $\alpha$ - y  $\beta$ -insaturados (por ejemplo, 4-hidroxi alquenos) y ciertos compuestos no volátiles no identificados, son los precursores de estas sustancias; por esta razón, este se conoce como el método TBA-RS. La reacción con TBA se produce por ataque de la forma monoénica de una molécula de MDA sobre los grupos metileno activos de dos moléculas de TBA con las eliminaciones de dos moléculas de agua, dando lugar a la formación de un complejo de color rojo con un máximo de longitud de onda de

532-535 nm. La intensidad de la absorbancia a esta longitud de onda está relacionada con la concentración de ácido MDA. TBA ha sido ampliamente utilizado como un reactivo para la medición colorimétrica de MDA debido a la estabilidad y el alto coeficiente de extinción molar del aducto a 532 nm (Estévez *et al.*, 2008).

#### **2.4 Evaluaciones sensoriales de la carne**

Aplicando una definición general se puede decir que la evaluación sensorial es una disciplina científica para provocar, medir, analizar e interpretar reacciones ante aquellas características de alimentos y materiales percibidas por los sentidos de la vista, el olfato, el sabor, el tacto y el oído. La evaluación sensorial se realiza con fines muy precisos: valorar el nivel de satisfacción de los consumidores antes de comercializar un producto alimenticio; verificar la similitud o la diferencia entre dos alimentos; medir, del mismo modo que un instrumento, la intensidad de los atributos sensoriales de los alimentos, describir olores y sabores, entre otros (Stone y Sidel, 1993).

El análisis sensorial es una disciplina muy útil para conocer las propiedades organolépticas de los alimentos por medio de los sentidos. La evaluación sensorial es innata en el hombre ya que desde el momento que se prueba algún producto, se hace un juicio acerca de él, si le gusta o disgusta, describe y reconoce sus características de sabor, olor y textura. El análisis sensorial se realiza a través de los sentidos. Para este caso, es importante que los sentidos se encuentren bien desarrollados para emitir un resultado objetivo y no subjetivo. El análisis sensorial de los alimentos es un instrumento eficaz para el control de calidad y aceptabilidad de un alimento, ya que cuando ese alimento se quiere comercializar, debe cumplir los requisitos mínimos de higiene, inocuidad y calidad del producto (Carpenter *et al.*, 2000).

La herramienta básica o principal para llevar a cabo el análisis sensorial son las personas, en lugar de utilizar una máquina, el instrumento de medición es el ser

humano, ya que el ser humano es un ser sensitivo, sensible, y una máquina no puede dar los resultados que se necesitan para realizar un evaluación efectiva. Para llevar a cabo el análisis sensorial de los alimentos, es necesario que se den las condiciones adecuadas (tiempo, espacio, entorno) para que éstas no influyan de forma negativa en los resultados, los catadores deben estar bien entrenados, lo que significa que deben de desarrollar cada vez más todos sus sentidos para que los resultados sean objetivos y no subjetivos (Morales, 1994).

En general el análisis se realiza con el fin de encontrar la fórmula adecuada que le agrade al consumidor, buscando también la calidad, e higiene del alimento para que tenga éxito en el mercado (Sancho *et al.*, 1999).

La evaluación sensorial aun cuando admita circunstancias naturales, está apoyada en conocimientos científicos y en procesos de aprendizaje que se forman día tras día, con cada una de las prácticas realizadas. Entonces la valoración de un producto alimenticio se percibe a través de uno, dos o más sentidos. La percepción de cualquier estímulo ya sea físico o químico, se debe principalmente a la relación de la información recibida por los sentidos, denominados también como órganos receptores periféricos, los cuales codifican la información y dan respuesta o sensación, de acuerdo a la intensidad, duración y calidad del estímulo, percibiéndose su aceptación o rechazo (Anzaldúa, 1994).

La evaluación del consumidor se ha utilizado ampliamente en las últimas décadas para evaluar la aceptabilidad y calidad de los productos alimenticios, incluida la carne. Las pruebas afectivas se utilizan para evaluar el gusto del consumidor y sus preferencias de productos alimenticios. Sin embargo, estos métodos se basan en medir las respuestas conscientes de consumidores y se ha demostrado a menudo que son un mal predictor del comportamiento de compra (Torrico *et al.*, 2018).

En un estudio donde se realizó análisis sensorial a la carne de oveja se encontró que los consumidores que prefieren la carne de cerdo usaron términos

relacionados con defectos sensoriales (por ejemplo, mal sabor, masticable, duro) para describir la carne de oveja, lo que sugiere que no le gustaban sus características sensoriales. Sin embargo, el otro segmento evaluó positivamente el sensorial y hedónico. La segmentación del mercado ha sido identificado como una estrategia efectiva para aumentar el beneficio de las empresas (Amine y Smith, 2009).

Los estudios que investigan el análisis sensorial de la carne son complejos, costosos y requieren personal con alta capacitación y coordinación, además de muchos participantes para obtener datos representativos (Martinez-Cerezo *et al.*, 2005).

A pesar de todo, las preferencias del consumidor son, sin duda, uno de los principales factores que determinan tendencias de compra; sus expectativas y percepciones se pueden utilizar en estudios para mejorar la calidad de la carne sobre la evaluación de los rasgos sensoriales del cordero por los consumidores (Khan *et al.*, 2015).

La calidad de la carne comprende combinaciones de ternura, jugosidad y sabor a través de las cuales los consumidores juzgan a la carne; sin embargo, estos parámetros son muy variables (Grunert *et al.*, 2004). En un estudio se reportó que los lomos de carne con alto contenido de grasa intramuscular tenían altos puntajes de ternura, jugosidad y sabor (Jost *et al.*, 1983). Por lo tanto, la cantidad de grasa intramuscular presente en una carne o producto cárnico, puede ser indicador de aceptabilidad.

## **2.5 Expresión de genes relacionados con metabolismo lipídico**

Estudios epidemiológicos han sugerido que una ingesta excesiva de ácidos grasos trans-insaturados aumenta el riesgo de enfermedad coronaria. Sin embargo, los mecanismos de acción de los ácidos grasos trans-insaturados en las células eucariotas siguen siendo poco claros. Se han realizado estudios con levaduras de

*Saccharomyces cerevisiae* que pueden crecer utilizando ácidos grasos como única fuente de carbono, es un modelo simple y adecuado para comprender los efectos de los ácidos grasos trans-insaturados en los niveles molecular y celular. Se estudiaron los efectos fisiológicos de los ácidos grasos monoenoicos  $\Delta 9$  cis y trans de 18 carbonos (ácido oleico y ácido elaídico) y los resultados obtenidos revelaron que los dos tipos tienen efectos distintos sobre la expresión de OLE1, que codifica la  $\Delta 9$  desaturasa y la lipotoxicidad en las células. Los resultados sugieren que los ácidos grasos monoenoicos cis y trans de 18 carbonos ejercen diferentes efectos fisiológicos en la regulación de la expresión génica y el procesamiento de los ácidos grasos en exceso en la levadura (Nakamura *et al.*, 2017).

La adición de vitamina E en los concentrados es un método efectivo para reducir la oxidación de los productos cárnicos y aumentar su vida útil. La vitamina E es un antioxidante lipo-soluble ampliamente usado en las dietas de los animales, siendo el  $\alpha$ -tocoferol su forma más activa. Los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 (AGPI n-3), entre ellos el ácido docosapentanoico [DPA, 22:5(n-3)], eicosapentanoico [EPA, 20:5(n-3)] y el docosahexanoico [DHA, 22:6(n-3)] además de ser considerados como saludables, están implicados en una gran variedad de funciones celulares, incluyendo regulación génica, fluidez de membrana y como precursores de varias clases de moléculas señalizadoras. Sin embargo, debido a su alto grado de insaturación en la cadena alifática, los AGPI n-3 son particularmente sensibles a la peroxidación. El  $\alpha$ -tocoferol previene esta peroxidación, eliminando específicamente los radicales peroxilo, previniendo la degradación de lípidos. Otra vía más económica para incrementar el contenido de  $\alpha$ -tocoferol en carne es el pastoreo, debido a la presencia de dicho compuesto en el forraje verde. En numerosos estudios se ha observado que la vitamina E modula la actividad de muchas enzimas envueltas en la transducción de la señal con una consecuente alteración del comportamiento celular, como puede ser la expresión génica, por lo tanto, se examinaron el efecto de la suplementación con  $\alpha$ -tocoferol o pastoreo con alfalfa sobre el contenido de AGPI y la expresión génica

de genes clave que intervienen en el metabolismo de AGPI, relacionados con la desaturación de ácidos grasos [estearoil CoA desaturasa (SCD),  $\Delta 5$  desaturasa (FADS1) y  $\Delta 6$  desaturasa (FADS2)] y la elongación de ácidos grasos de cadena muy larga [elongasa de ácidos grasos de cadena larga tipo 5 (ELOVL5) y elongasa de ácidos grasos de cadena larga tipo 6 (ELOVL6)] en músculo. Estos resultados sugieren que la vitamina E es un posible regulador de la expresión génica de estos genes, modificando su expresión en los animales que han consumido un pienso enriquecido con acetato de  $\alpha$ -tocoferol (González-Calvo *et al.*, 2013).

La regulación del metabolismo de los ácidos grasos se da entre otros a través de cambios a nivel de transcripción, procesado del mRNA, estabilidad del mRNA o actividad de varios factores de transcripción. En este último caso, como la familia peroxisome proliferator receptor (PPAR) y la esteriol regulatory element binding proteins (SREBP1). Estos factores de transcripción regulan la expresión de diversas enzimas claves dentro de las rutas metabólicas de los ácidos grasos. A diferencia del hígado, los cerdos alimentados con la dieta sin grasa presentaron una expresión mas alta de los genes involucrados en la síntesis de esteárico; acetil CoA carboxilasa y ácido graso sintetasa (ACACA y FASN) y también de un gen involucrado en la desaturación (Steriol CoA desaturasa) (SCD). Estos resultados se ajustan al incremento de la lipogénesis. Los cerdos que se alimentaron con cebo, dieta rica en ácidos grasos saturados presentaron los niveles mas bajos en la expresión de mRNA de los genes ACACA y FASN, mientras que los cerdos alimentados con aceite de girasol presentaron valores más altos (Duran-Montge *et al.*, 2009).

Estos mismos autores también han observado la reducción en la lipogénesis en cerdos alimentados con dietas enriquecidas con grasas saturadas comparando con dietas ricas en grasa insaturadas lo cual podría ser relacionado con una menor digestibilidad de las grasas saturadas, en el estudio se resolvió fijando la cantidad de grasa de las dietas en función de su digestibilidad. El gen PPAR no

mostró ningún cambio en los contenidos de mRNA por el tipo de dieta, tanto en tejido adiposo como en hígado. Los resultados demuestran que la composición de la grasa de la dieta modifica la expresión de genes relacionados con la lipogénesis tanto en hígado como en tejido adiposo. El tejido adiposo es el principal órgano de síntesis de ácidos grasos y los resultados del estudio sugieren que los efectos del tipo de grasa de la dieta en el hígado son distintos (Duran-Montge *et al.*, 2009).

En un estudio con ovinos se encontró un efecto por el sistema de alimentación en la expresión de los genes LPL, ACACA, FASN, FABP4, DGAT1, SCD, CPT1B, PRKAA2, LEP, SREBP1, PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  y los genes CEBPB en el músculo semitendinoso. Se encontraron diferencias significativas en la expresión de los genes LPL, ACACA, FASN, FABP4, CPT1B y SCD. Dependiendo del tipo de alimentación con genes relacionados con la adipogénesis (LPL, ACACA, FASN, FABP4 y SCD). Los resultados apoyan la hipótesis de que hay cambios en el perfil de ácidos grasos de la carne debido a la alimentación, esto implica cambios en el nivel de expresión de mRNA de los genes relacionados con el metabolismo de las grasas. La alimentación es una herramienta importante para manipular el perfil de ácidos grasos en la carne mediante la alteración de la expresión génica de las enzimas relacionadas con el metabolismo de las grasas (Dervishi *et al.*, 2011).

La enzima esteroil-coenzima A-desaturasa (SCD) se ha propuesto como un regulador clave para el contenido de grasa y la composición de ácidos grasos de la carne. En este estudio se evaluó el polimorfismo en un intento de investigar la relación entre la variación dentro del gen de SCD, perfiles de ácidos grasos, composición fisicoquímica y características de calidad del músculo *longissimus dorsi* (LD) en dos razas de ovejas tradicionales de las razas grasa (Chall) y delgada (Zel). Los resultados de los análisis de correlación mostraron correlaciones negativas significativas entre los índices de ácidos grasos polinsaturados/saturados y las medidas de color, con un efecto de los genotipos SCD sobre la composición de ácidos grasos y el color de la carne. Resultando en una mayor proporción de ácidos grasos saludables en la alimentación, una menor

proporción de ácidos grasos dañinos y un mejor color en la carne (Mohsen *et al.*, 2016).

La regulación de la expresión de los genes está determinada por una serie de moléculas que en su conjunto modulan la activación o la represión de un gen o de un grupo de genes. Esta regulación requiere de diferentes receptores nucleares, que en la forma de homodímeros o heterodímeros interactúan con el DNA en lugares específicos denominados dominios de interacción del DNA. La unión del receptor al DNA es determinada por la presencia de ligandos específicos. El resultado final de este complejo proceso produce la activación o la represión de la expresión de un gen. Numerosas moléculas actúan como ligandos de receptores nucleares, siendo los ácidos grasos y sus derivados uno de los ligandos de origen nutricional más importantes. Los ácidos grasos poliinsaturados, al actuar como ligandos de receptores nucleares desencadenan una gran variedad de respuestas celulares; inducen la diferenciación de adipositos, modifican la resistencia a la insulina, regulan la presión vascular, inducen la apoptosis de células tumorales, modifican el metabolismo de los carbohidratos, etc. Esta nueva función de los ácidos grasos los identifica como importantes reguladores de los genes, con lo cual actualmente se les relaciona con algo más que la producción de energía y la esencialidad (Sanhueza y Valenzuela, 2006).

### **2.5.1 Genes y sus características**

**Gen PPARG.** Regula el almacenamiento de los ácidos grasos y el metabolismo de la glucosa. Los genes activados por PPARG estimulan la absorción de lípidos y la adipogénesis por las células grasas (RefSeq, 2016).

**Gen SCD.** Esteroil-CoA desaturasa ( $\Delta$ -9-desaturasa) es una enzima clave en el metabolismo de ácidos grasos. Es responsable de la formación de un doble enlace en esteroil-CoA. Así es como el ácido oleico, ácido graso monoinsaturado se produce a partir del ácido esteárico de ácidos grasos saturados (RefSeq, 2016).

**Gen FASN.** Ácido graso sintasa es una proteína multi-enzima que cataliza la síntesis de ácidos grasos. No es una sola enzima, es un sistema enzimático. El complejo cataliza la formación de ácidos grasos de 16 átomos de carbono; es decir, su principal función es la síntesis de palmitato (C16:0, un ácido graso saturado de cadena larga) a partir de acetil-CoA y malonil-CoA, en presencia de NADPH (RefSeq, 2016).

**Gen ACACA.** Es un sistema complejo enzima multifuncional. La acetil-CoA carboxilasa (ACACA) es una enzima que contiene biotina que cataliza la carboxilación de acetil-CoA a malonil-CoA, el paso limitante de la velocidad en la síntesis de ácidos grasos (RefSeq, 2016).

ACACA es la enzima limitante de la velocidad en la biosíntesis del ácido palmítico y los ácidos grasos de cadena larga. Al ingerir en la dieta ácido palmítico, aumenta los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (García-Fernández *et al.*, 2009).

**Gen FASBP3.** Enriquecido en los tejidos lipogénicos. Las proteínas de unión a ácidos grasos intracelulares (FABPs) pertenecen a una familia de genes múltiples. FABPs se dividen en al menos tres tipos distintos, la hepática, intestinal y de tipo cardíaco. Forman proteínas de 14-15 kDa y se cree que participan en la absorción, el metabolismo y/o el transporte de ácidos grasos de cadena larga intracelular. Ellos también pueden ser responsables en la modulación del crecimiento y la proliferación celular de unión a ácidos grasos. El complejo enzimático se encuentra bajo control a largo plazo en los niveles de transcripción y traducción y bajo la regulación a corto plazo por la fosforilación/desfosforilación de restos de serina específicos y por transformación alostérica por citrato o palmitoil-CoA (RefSeq, 2016).

**Gen SREBF1.** Este gen codifica un factor de transcripción que se une al esteroide regulador elemento-1 (SRE1), es un decámero que flanquea el gen del receptor de

lipoproteínas de baja densidad y algunos genes implicados en la biosíntesis de esterol. La proteína se sintetiza como un precursor que se une a la membrana nuclear y el retículo endoplásmico. Después de la escisión, la proteína madura se traslada al núcleo y activa la transcripción mediante la unión a la SRE1. Los esteroides inhiben la escisión del precursor y la forma madura nuclear se cataboliza rápidamente, reduciendo de ese modo la transcripción. La proteína es un miembro de la familia de factores de transcripción de la hélice-bucle-hélice-leucina (bHLH-Zip), según lo mencionado por la RefSeq (2016).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Ubicación**

En esta investigación, la parte zootécnica se llevo a cabo en el laboratorio de Fisiología Nutricional y Cirugía Experimental del Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias en la Unidad Académica de Agricultura, que se localiza a un costado de la carretera Tepic-Puerto Vallarta, a la altura del Km. 9.

Los trabajos analíticos se desarrollaron en la unidad especializada de I+D+i en Calidad de alimentos y productos naturales del Centro Nayarita de Innovación y Transferencia de Tecnología, A.C. (CENiT<sup>2</sup>) perteneciente a la Universidad Autónoma de Nayarit y ubicado en Cd. del Conocimiento de Tepic, Nayarit.

#### **3.2 Diseño experimental**

Se obtuvieron muestras cárnicas de las piernas y los lomos de 18 ovinos machos enteros, alojados en jaulas individuales procedentes de una investigación anterior en donde se evaluaron los parámetros productivos por efecto de la adición de dos ingredientes distintos considerados como tratamientos y un grupo control. Se asignaron seis ovinos al primer grupo y que fueron alimentados con una dieta que contenía harina de pasta de aguacate (HPA), otro grupo de seis ovinos se alimentaron con aceite de girasol como parte de los ingredientes de dietas y otro grupo de 6 animales alimentados con una dieta control (Cuadro 1).

Los ovinos fueron alimentados por un periodo de 84 días, durante los cuales alcanzaron el peso de  $48 \pm 2$  kg. Cumplido el tiempo, los ovinos fueron sacrificados humanitariamente siguiendo los protocolos establecidos en la NOM-033-SAG/ZOO-2014.

Los animales se dividieron en tres bloques de sacrificio, constando cada bloque de seis borregos y en cada bloque de dos animales por tratamiento que consistieron en las diferentes dietas utilizadas. Una con inclusión de HPA al 10% en BS, otra

con inclusión de aceite de girasol al 10% en BS y la dieta control como se describen en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Dietas formuladas para la alimentación de los ovinos.

	<sup>1</sup> HPA, 10%	Aceite de girasol, 10%	Control, 0%
Relación Forraje - Concentrado	40-60	40-60	40-60
<b>INGREDIENTES</b>	INC. B.S., %	INC. B.S., %	INC. B.S., %
Aguacate	10.00	0.00	0.00
Aceite de girasol	0.00	10.00	0.00
Alfalfa molida	30.00	40.00	40.00
Sorgo grano	44.47	35.27	46.91
pasta de soya	3.56	3.05	4.59
Canola	3.27	3.02	0.10
Melaza	7.00	7.00	7.00
Minerales con Monensina (0.3%)	1.00	1.00	1.00
Urea	0.40	0.36	0.10
Oxido de magnesio (0.3%)	0.30	0.30	0.30
	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

<sup>1</sup>HPA: Harina de pasta de aguacate; INC. B.S: Inclusión en base seca.

### 3.3 Evaluaciones para determinar la calidad de la carne

De las piernas y lomos de cada ovino, se tomaron muestras cárnicas para realizar las siguientes determinaciones:

#### 3.3.1 Caracterización químico-proximal

La determinación de humedad y proteína se realizaron siguiendo las metodologías descritas por la A.O.A.C. (2012).

#### 3.3.2 Cuantificación de grasa total intramuscular

El cambio cuantitativo en grasa intramuscular del lomo se realizó mediante la técnica descrita por Folch *et al.* (1957) con las siguientes modificaciones. Donde 5.0 g de carne finamente picada fueron homogenizados con 25 mL de cloroformo metanol 2:1 (v/v) y centrifugó a 3,000 rpm durante 10 min. Se recuperó la fracción líquida filtrándola en embudo de decantación, al sedimento se le aplicó el mismo

procedimiento de homogenización y centrifugación, la fracción líquida fue recuperada en el mismo embudo de decantación. A este filtrado se le agregaron 15 mL de NaCl 0.75%, se agitaron los embudos de decantación y se dejaron en reposo alrededor de 24 h. En matraz esmerilado, previamente registrado el peso constante, se recuperó la fase clorofórmica utilizando embudo, papel filtro y sulfato de sodio anhidro, el cloroformo se evaporó utilizando un rota evaporador hasta obtener solo la grasa para su cuantificación; posteriormente, fue redisuelta en cloroformo para conservarla a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  en un ultracongelador para su posterior metilación y determinación de los perfiles de ácidos grasos.

### **3.3.3 Evaluación de pH**

Se utilizó un potenciómetro de cuchilla, el cual se introdujo en la carne. Se hace perforando la muestra de carne con la cuchilla que tiene el equipo, se introduce el electrodo de manera perpendicular a la masa muscular seleccionada y a unos dos centímetros de profundidad. Evitando en lo posible el contacto de la sonda con la grasa o el tejido conectivo. La medición se realiza a los 45 min y a las 24 h posteriores al sacrificio del animal.

### **3.3.4 Capacidad de retención o pérdida por goteo**

Se realizó siguiendo el método de conservación de refrigeración a  $3\text{ }^{\circ}\text{C}$  con luz, la muestra cárnica se dispuso en una charola de poliestireno con una película de plástico permeable al oxígeno, se cuantificó tomando el peso de una porción de carne de aproximadamente 100 g y se pesó a las 0, 24 y 48 h (Poulanne y Demeyer, 1992).

### **3.3.5 Análisis del perfil de ácidos grasos**

Para la cuantificación de los ácidos grasos se utilizó la grasa previamente extraída a través del método Folch y después se realizó una metilación en frío (conversión de los ácidos grasos en ésteres metílicos). Los ésteres metílicos se forman por la transesterificación con una solución metanólica de hidróxido potásico como una fase intermedia antes de que se produzca la saponificación. Se tomaron 30 mg

de grasa extraída en tubos de ensayo con rosca, se evaporó el cloroformo de la muestra con grasa utilizando gas nitrógeno, se agregaron 2 mL de hexano y se agitaron en vórtex hasta disolver la grasa. Posteriormente se agregaron 200  $\mu$ L de KOH 2M en metanol y se agitó con vórtex durante 10 s para favorecer la reacción, se dejó en reposo durante 10 min a temperatura ambiente; por último, se centrifugaron a 3,500 rpm durante 5 min, hasta clarificación total. Se recuperó la fase superior (aproximadamente 1 mL) en vial de cromatografía gaseosa (Cert *et al.*, 2000).

La determinación de los perfiles de ácidos grasos se realizaron en un cromatógrafo de gases marca BRUKER SCION 456-GC y automuestreador CombiPAL, equipado con un inyector de vaporización de temperatura programada (PTV), detector de ionización de flama (FID) y una columna capilar Select FAME, Agilent J&W CP7420 (100 m x 0.250 mm i. d. x 0.25  $\mu$ m). La rampa de temperatura trabajada fué: temperatura inicial de 180 °C por 1 min, 235 °C a 2 °C/min y a 250 °C a 5 °C/min durante 10 min. La temperatura del inyector fue de 260 °C y del detector de 275 °C; el gas acarreador fue helio grado Ultrapure con un flujo de columna de 1.2 mL/min.

La identificación individual de los ácidos grasos se realizó en comparación con el estándar Supelco 37 FAME Mix (CRM47885), usando Pentadecano como estándar interno. Los resultados obtenidos fueron expresados en porcentaje del total de ácidos grasos.

### **3.3.6 Determinación instrumental del color**

Se realizó la medición instrumental del color de la carne mediante un colorímetro Minolta Chroma CR200, utilizando el espacio de color CIELAB (CIE, 1986). En este espacio de color  $L^*$  significa luminosidad y  $a^*$  y  $b^*$  significan las coordenadas de cromaticidad. El valor  $L$  determina la intensidad de la luminosidad ( $L^*=0$  oscuro,  $L^*=100$  luminoso);  $a^*$  indica el tono de color de la muestra dentro del espacio de

color rojo-verde (+60 rojo, -60 verde); y b\* que revela el tono de color dentro del espacio de color amarillo-azul (+60 amarillo, -60 azul).

Las mediciones del color de las piezas cárnicas se realizaron sobre la superficie de las muestras por triplicado y en tres zonas distintas elegidas aleatoriamente y a temperatura ambiente, aproximadamente 45 min después del sacrificio de los animales.

### 3.4 Elaboración de sistemas modelo

Con la carne procedente de la pierna de cada borrego de los distintos tratamientos, se desarrollaron sistemas modelo tipo hamburguesa utilizando un molino de carne, siguiendo las especificaciones de formulación descritas en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Formulación para la elaboración de sistemas modelo tipo hamburguesa de carne de ovinos.

<b>Ingrediente</b>	<b>% de inclusión</b>
Pierna	92.5
Grasa subcutánea	4.6
Sal	1.15
Agua	1.75

Para la elaboración de los sistemas modelo con la carne de pierna de ovino, se deshuesó, se molió la carne y la grasa en un molino de carne (Torrey) con criba de 1/8 de pulgada; una vez molida, se adicionó la sal y el agua hasta completar una mezcla homogénea. Posteriormente, la mezcla fue envasada al vacío para eliminar las burbujas de aire que se pudieran formar. Con la mezcla se elaboraron hamburguesas de 60 g mediante un aro metálico de ocho centímetros de diámetro y tres centímetros de altura, para que todas las hamburguesas quedaran del mismo tamaño y grosor.

### **3.4.1 Preparación de muestras para determinar la estabilidad oxidativa**

Una vez realizados los sistemas modelo, se prepararon hamburguesas para evaluarlas, un grupo en estado crudo y otro grupo fueron cocinadas en una plancha eléctrica a 200 °C durante 5 min por cada lado asegurando una temperatura interna mínima de 75 °C; posteriormente, se dejaron enfriar. Una vez frías fueron almacenadas en bandejas de poliestireno y cubiertas con una película plástica, en refrigeración a 3 °C y con luz (en vitrina) por un periodo de 12 días; el mismo procedimiento de almacenamiento se siguió a las crudas. Tanto a las hamburguesas crudas, como las cocinadas se les realizaron muestreos los días 0, 3, 6, 9 y 12, y cada muestra fue conservada en ultra congelación a -80 °C para posteriormente hacer las determinaciones de estabilidad oxidativa.

A los sistemas modelo por cada periodo de muestreo, se les realizaron las siguientes mediciones para determinar la estabilidad oxidativa.

### **3.4.2 Análisis de estabilidad oxidativa del color**

De la superficie de los sistemas modelo crudos y cocinados en cada periodo de tiempo se midió el color con un colorímetro Minolta CR-410 (Minolta Camera Corp., Meter Division, Ramsey, N.J., U.S.A.) eligiendo la misma escala que se utilizó para la carne fresca (CIE L\*a\*b\* color system).

### **3.4.3 Determinación de productos secundarios de la oxidación de lípidos por la técnica de TBA-RS**

Se realizó el análisis de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) descrita por Ganhão *et al.* (2011) con algunas pequeñas adecuaciones, en los sistemas modelo crudos y cocinados y por cada periodo de tiempo de almacenamiento en refrigeración.

Se homogenizaron en tubo falcón 5 g de hamburguesa de ovino con 15 mL de ácido perclórico al 3.86% y 0.5 mL de BHT al 4.2% en etanol. Durante el desarrollo de este paso los tubos falcón permanecieron inmersos en hielo para minimizar la

generación de nuevas reacciones oxidativas. El homogeneizado se filtró y centrifugó a 3,000 rpm durante 4 min. Se aforó a un volumen conocido. Se tomó una alícuota de 2 mL que se mezcló con 2 mL de ácido tiobarbitúrico 0.02 M en tubo de vidrio con tapa de rosca. Los tubos con la muestra y la curva patrón se incubaron en un baño de agua a 100 °C durante 45 minutos. Tras enfriarse, se midió la absorbancia de la mezcla resultante a una longitud de onda de 532 nm. Se preparó una curva patrón para cuantificación usando 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) a concentraciones de entre 0.028 a 1.1134 mg TEP/L.

### **3.5 Evaluación sensorial**

La evaluación sensorial se desarrolló con un panel de catadores no entrenados con apoyo de profesores y estudiantes del laboratorio de Tecnología de los Alimentos de la Universidad Autónoma de Nayarit. Se seleccionaron 141 personas para hacer la evaluación sensorial de un grupo de hamburguesas de ovino, para establecer posibles diferencias entre los tratamientos (adición de harina de aguacate o aceite de girasol en la dieta).

La evaluación sensorial se llevó a cabo mediante una escala hedónica para determinar los atributos sensoriales de cada tratamiento tomando como base las metodologías descritas por Anzaldúa (1994) y Sancho *et al.* (1999).

Se evaluaron las hamburguesas de 18 borregos (seis alimentados con HPA, seis con aceite de girasol y seis con una dieta control) para medir el grado de aceptación, apariencia, color y sabor.

Las muestras utilizadas para los análisis sensoriales fueron sistemas modelos que se realizaron a las 24 horas después de sacrificio, se mantuvieron en refrigeración a -20 °C y posteriormente se envasaron al alto vacío hasta la evaluación por los panelistas. Un día antes de cada sesión del panel, las muestras fueron descongeladas.

Una vez descongeladas, se cocinaron en una parrilla eléctrica durante 5 min por una cara y 5 min por la otra, comprobando por medio de un termómetro que la temperatura interna alcanzara al menos 75 °C. Cada muestra cocinada se cortó en cuatros submuestras para servir a los panelistas. Las muestras fueron evaluadas por panelistas no entrenados usando una escala hedónica de siete puntos. A los panelistas, se les pidió evaluar la apariencia, el olor, la dureza en boca, terneza, jugosidad, sabor y aceptabilidad general.

Se utilizaron escalas con valores de 1 a 7 no estructuradas, que representan en los extremos, el mínimo (1 = extremo) bajo de la sensación, un punto medio que no agrada ni desagrada y el máximo (7) sensación extremadamente intensa). Se le pidió a cada panelista que tomará agua antes de probar cada muestra para refrescar la boca entre cada submuestra.

Cada muestra se codificó con números de tres dígitos elegidos aleatoriamente. Se les indicó a los jueces que evaluaran los atributos de apariencia, olor y sabor y marcaran con una X la calificación que consideraran oportuno asignarles en la escala hedónica.

La escala de hedónica que se utilizó fue la siguiente:

Me gusta mucho	7
Me gusta bastante	6
Me gusta ligeramente	5
Ni me gusta ni me disgusta	4
Me disgusta ligeramente	3
Me disgusta bastante	2
Me disgusta mucho	1

### **3.6 Expresión de genes del metabolismo lipídico**

#### **3.6.1 Toma de muestra para evaluar la expresión de los genes PPARG, SCD, FASN, ACACA, FASBP3 y SREBF1**

Para los análisis de expresión génica, una vez realizado el sacrificio de cada animal, se tomaron tres muestras de aproximadamente 0.5 g de la región interna de músculo Longissimus dorsi. El tejido se colectó en criotubos de 2.0 mL y se conservaron con una solución de estabilización de RNA (RNAlater® Stabilization Solution), se trasladaron al laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal de la U.A.A. de la UAN, en donde se almacenaron a -20 °C, hasta su posterior análisis y posteriormente se realizó la PCR-RT en el CENiTT.

#### **Purificación de RNA**

Se pesaron 75 mg de cada una de las muestras de los tejidos y mediante la utilización del kit Dircet-zoITM RNA MiniPrep (Zymo Research Corp.) se realizó la purificación de RNA total siguiendo el protocolo del fabricante el cual consta de dos pasos: Preparación de la muestra y purificación del RNA.

Se revisó la integridad del RNA purificado, mediante electroforesis en un gel de agarosa ultrapura (Invitrogen) a una concentración de 1.5% y tinción con bromuro de etidio a una concentración de 10 mg/mL. Se cuantificó la concentración y pureza del RNA por medio de espectrofotometría utilizando el equipo Thermo Scientific NanoDrop 2000c.

#### **Síntesis de DNA complementario**

Una vez realizada la purificación del RNA de cada una de las muestras experimentales, se tomaron 1000 ng de RNA total para la posterior generación de moléculas de DNA complementario (cDNA), esto se realizó mediante una reacción de retrotranscripción utilizando el kit Thermo Scientific Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit with dsDNase, siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante.

Ya conocida la concentración de cada una de las muestras, se realizaron alícuotas de un volumen de 25 µL y con una concentración de 5 ng/µL de cDNA y se conservaron a -20 °C para el análisis de expresión génica.

### 3.6.2 Análisis de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

#### Oligonucleotidos

Empleando secuencias específicas de mRNA de los genes PPARG, SCD, FASN, ACACA, FABP3, RNA S18 y SREBF1 de ovinos publicadas en National Center for Biotechnology Information (NCBI) se utilizaron Oligonucleotidos específicos (INVITROGEN) para amplificar fragmentos de 80 a 300 pares de bases (pb) de cada uno de los mRNA de cada gen de interés y el gen de referencia, los Oligonucleotidos son los siguientes:

acetil-CoA carboxilasa α (ACACA)

F-5'-TGAAGGATGTGGATGATGG-3'

R-5'-CGCGTTGTTGACTTTTCTGA-3'

Ácido Graso Sintasa (FASN)

F-5'-TGCTGTCCATGCGGGAAATC-3'

R-5'-TGAGCACATCTCGAAAGCCA-3'

Desaturasa Esteroil-CoA (SCD)

F-5'-ACCTGGCTGGTGAATAGTGCT-3'

R-5'-TCTGGCACGTAACCTAATACCCT-3'

Proteína transportadora de ácidos grasos (FAPB3) Sterol Regulatory Element Binding Protein-1 (SREBP1)

F-5'-CCAGCTGACAGCTCCATTGA-3'

R-5'-TGCGCGCCACAAGGA-3'

Receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas(PPARG)

F-5'-ACGGGAAAGACGACAGACAAA-3'

R-5'-AAACTGACACCCCTGGAAGATG-3'

Se realizaron búsquedas de homología para confirmar la identidad de los fragmentos amplificados entre cada uno de los oligonucleotidos y cada una de las secuencias de RNA mensajero de los genes de estudio, esto se realizó mediante el uso de los paquetes bioinformáticos Clone Manager Suite 7 y BLAST (NCBI).

### **3.6.3 Análisis de la expresión génica mediante PCR-RT**

Las reacciones de PCR cuantitativa se llevó a cabo en un termociclador de tiempo real (Rotor-Gene Q 5plex HRM, QIAGEN). Para este ensayo se utilizaron: cDNA 6  $\mu$ L (30 ng/  $\mu$ L de cDNA), 3  $\mu$ L agua libre de ácidos nucleicos, 10  $\mu$ L de SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2x) (Fermentas) y 1  $\mu$ L de oligonucleotido sentido y antisentido para cada uno de los genes de interés, obteniendo un volumen final de 20  $\mu$ L por reacción.

Las condiciones de amplificación fueron: Un paso inicial de 5 min a 95 °C, seguido de 45 ciclos de 15 s a 95 °C y 1 min a la temperatura de alineación específica del oligonucleotido en uso fue 56 °C para SCD, 60 °C para PPARG y , 62 °C para ACACA ó 64 °C FASBP3, SREB1 y FANS. Por último se realizó un análisis de la curva de fusión compuesto por una rampa de temperatura que va de los 64 °C a los 95 °C aumentando 1 °C cada 5 s.

Se calculó la eficiencia de amplificación de cada uno de los genes de interés usando el método de dilución en una curva estándar de cinco puntos. La curva de cada uno de los genes se generó con cinco puntos seriados de dilución con las siguientes concentraciones: 30 ng/ $\mu$ L, 15 ng/ $\mu$ L, 7.5 ng/ $\mu$ L, 3.75 ng/ $\mu$ L y 1.875 ng/ $\mu$ L de una mezcla de cDNA de todas las muestras. Cada punto de las curvas se analizó por triplicado. Las eficiencias de amplificación (E) de la PCR en tiempo real se calcularon con los valores de las pendientes dadas por el software del Rotor-Gene Q 5plex HRM, QIAGEN basándose en la fórmula descrita por Pfaffl (2001).

$$(E) = 10^{-1/\text{pendiente}}$$

Una vez corrida la curva estándar se llevaron a cabo ensayos simultáneos en un mismo análisis de PCR en tiempo real, ocho repeticiones por tratamiento, usando los oligonucleotidos específicos de uno de los genes de interés y tres repeticiones por tratamiento usando los oligonucleotidos del gen de referencia (proteína ribosomal 18S), utilizado para los ensayos descritos anteriormente, cDNA agrupado de todas las muestras de un mismo tratamiento. Este procedimiento se repitió con cada uno de los tratamientos, de tal manera que se realizaron los ensayos simultáneos de cada uno de los genes de interés (PPARG, SCD, FASN, ACACA, FABP3 y SREBF1) y el gen de referencia (proteína ribosomal 18S) a cada uno de los tratamientos.

### 3.6.4 Análisis de los datos para la obtención de la expresión relativa de los genes

Primeramente se obtuvo el promedio de los valores del umbral del ciclo (Ct) de todas las repeticiones de los ensayos simultáneos de cada uno de los genes de interés (PPARG, SCD, FASN, ACACA, FABP3 y SREBF1) y el gen de referencia (proteína ribosomal S18) de cada uno de los tratamientos. El promedio se usó para calcular la cantidad relativa de los genes de interés.

La cuantificación de la expresión relativa de los genes de interés se determinó por el método descrito por Pfaffl (2001). Este método determina un rango de expresión relativa de un gen de interés calculado con base a las eficiencias (E) y la diferencia de los valores de Ct de una muestra desconocida (tratamientos) *versus* una muestra control y expresada en comparación a un gen de referencia. La siguiente ecuación muestra el modelo matemático del cual se obtiene el rango de expresión relativa en PCR en tiempo real.

$$Rango = \frac{((E)_{\text{del gen de interés}})^{\Delta Ct_{\text{del gen de interés}}} = Ct(\text{control}) - Ct(\text{muestra del tratamiento})}{((E)_{\text{del gen de referencia}})^{\Delta Ct_{\text{del gen de referencia}}} = Ct(\text{control}) - Ct(\text{muestra del tratamiento})}$$

Donde: (E) del gen de interés, es la eficiencia de amplificación del gen de interés en PCR en tiempo real; (E) del gen de referencia, es la eficiencia de amplificación del gen de referencia en PCR en tiempo real;  $\Delta Ct$  del gen de interés, corresponde

a la desviación del valor de Ct de la transcripción del gen de interés de la muestra control versus el valor de Ct de la transcripción del gen de interés de la muestra del tratamiento y  $\Delta Ct$  del gen de referencia, corresponde a la desviación del valor de Ct de la transcripción del gen de referencia de la muestra control contra el valor de Ct de la transcripción del gen de interés de la muestra del tratamiento.

La especificidad de los productos de amplificación y la presencia de dímeros de los oligonucleotidos se determinó mediante la fusión de las curvas estándar.

### **3.7 Análisis estadístico**

Para las variables de estudio de muestras cárnicas y para el análisis de genes de ovinos, se realizó un análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar con efecto de bloque, donde la fuente de variación será el tipo de alimento administrado a los animales y el bloque las tres repeticiones de sacrificio.

Al encontrar diferencias significativas debido a la fuente de variación, se realizaron pruebas de comparación de medias por la metodología de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

Los análisis estadísticos se procesaron con ayuda del programa estadístico SAS para Windows Ver 9.0 (SAS, 2002).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Estabilidad oxidativa del color en hamburguesas crudas de ovino

Como se observa en la Figura 3, los valores de luminosidad ( $L^*$ ) obtenidos instrumentalmente en la superficie de las hamburguesas crudas mostraron un incremento significativamente a lo largo del tiempo en las hamburguesas control, mientras que las hamburguesas de ovino que fueron alimentados con HPA y aceite de girasol mostraron valores similares y estables desde el inicio del periodo de evaluación hasta la finalización a los 12 días posteriores.

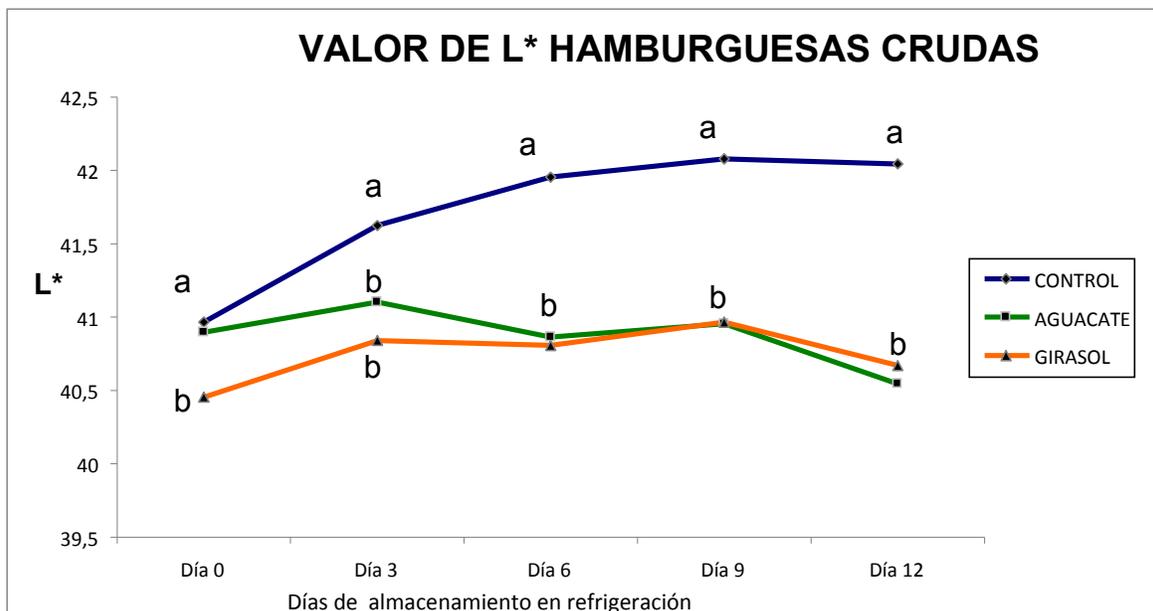


Figura 3. Evolución a lo largo de 12 días de almacenamiento en refrigeración, de la luminosidad superficial de sistemas modelo crudos de ovino.

El comportamiento de las hamburguesas con respecto al valor de  $b^*$  ('+' amarillo) (Figura 4) mostró la misma tendencia en todos los tratamientos a lo largo de los 12 días de almacenamiento en refrigeración; se nota un incremento acelerado del cambio del color los primeros días, logrando una estabilidad a partir del día tres, que es el tiempo en el que los componentes de la carne terminan los procesos bioquímicos de conversión de músculo a carne y comienzan los procesos oxidativos como tal; sin embargo, las elaboradas a partir de carne de ovino

alimentados con HPA y aceite de girasol, alcanzaron una tonalidad amarilla menos intensa que las elaboradas con carne de ovino alimentados con una dieta control.

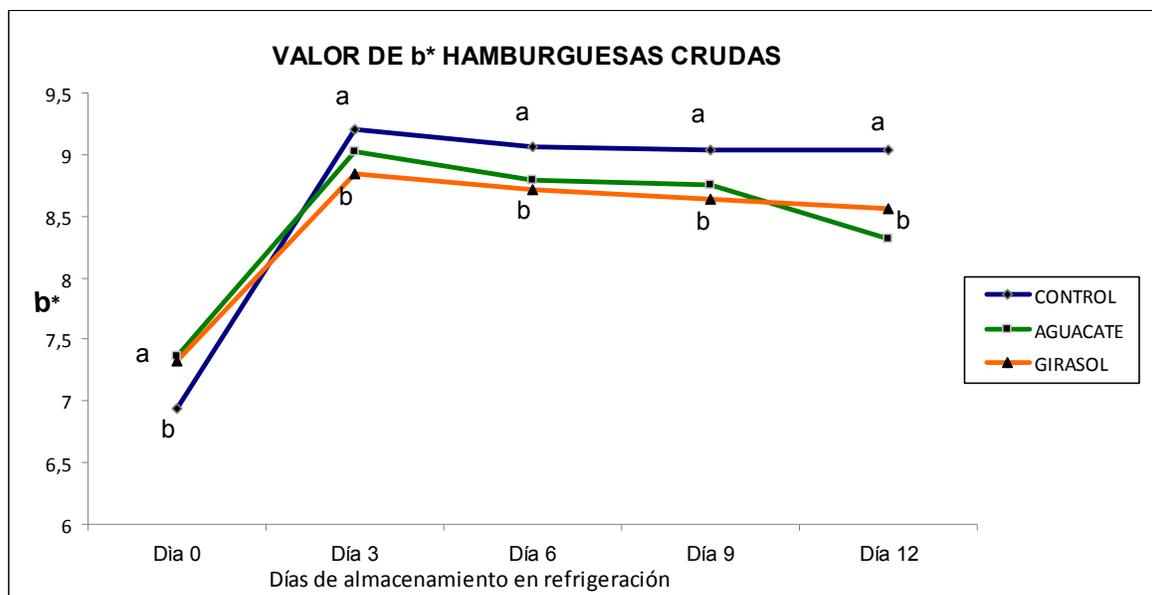


Figura 4. Evolución de los valores de  $b^*$  (+ amarillo), durante la medición del color superficial de las hamburguesas de ovino crudas a través de 12 días de almacenamiento en refrigeración a 3 °C y con luz.

Con respecto a la medida que determina el color rojo de la carne en las hamburguesas por medio de la escala de  $a^*$  (Figura 5), se observó que hay una pérdida natural del color rojo de la carne durante el almacenamiento en refrigeración, pero a partir del sexto día, los compuestos bioactivos presentes en cáscara y semilla del aguacate brindaron la estabilidad oxidativa por lo que se conservó un tono más rojo, en contraste con las hamburguesas de ovinos que fueron alimentados con aceite de girasol, que también mostraron una mejor estabilidad que las hamburguesas control.

Se han estudiado los cambios de color de la carne fresca de distintas especies animales durante el almacenamiento en refrigeración por más de diez días y los reportes muestran tendencias similares (Estévez *et al.*, 2003). Los resultados observados en este experimento, confirman que las hamburguesas sufrieron un

proceso de decoloración intensa que se define principalmente por la pérdida del color rojo ( $a^*$ ) durante el almacenamiento y que se asocia principalmente a la acumulación de metamioglobina (MetMb) en la superficie de las hamburguesas, ya que la oxidación de lípidos y la oxidación de mioglobina actúan conjuntamente para el desarrollo de la decoloración y consecuentemente hay una asociación con inicios de alteraciones del sabor.

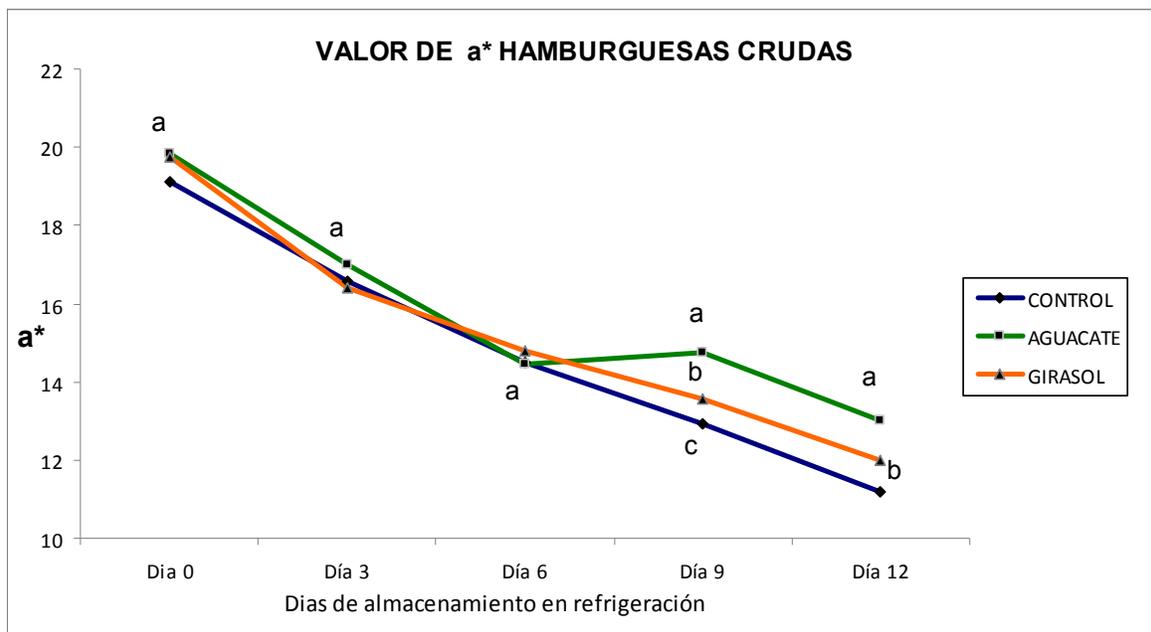


Figura 5. Evolución del color rojo ( $a^* = +$ ) en hamburguesas crudas de ovinos.

En varias investigaciones han reportado la preservación de color de la carne fresca después de la inclusión de ingredientes antioxidantes; por lo que la comprensión de la interacción de oxidación complementaria entre los elementos oxidados que generan más radicales libres y los componentes susceptibles en la carne (ácidos grasos poliinsaturados, principalmente), proporcionan una base para explicar la reacción en cadena del deterioro de la calidad de la carne, que da pautas para el desarrollo de estrategias para mantener las cualidades sensoriales óptimas (Faustman *et al.*, 2010).

La formación y acumulación de compuestos aromáticos indeseables y la decoloración de la carne dependen en gran medida de la generación de moléculas muy reactivas (ROS) entre las que se encuentran los iones de oxígeno, los radicales libres y los peróxidos que son generados por procesos naturales oxidativos, pero que van generándose de manera exponencial conforme pasa el tiempo y hay mayor exposición por desnaturalización de los componentes de la carne a estos radicales. Algunas de las estrategias empleadas para retardar la formación de MetMb en la carne, es la utilización de distintos compuestos antioxidantes en la dieta de animales de abasto antes del sacrificio; en este sentido, se ha reportado que la suplementación de tocoferoles o compuestos fenólicos de productos del reino vegetal en la dieta de animales de abasto ha brindado una excelente estabilidad oxidativa (Gerber *et al.*, 2006; Inserra *et al.*, 2015; Urrutia *et al.*, 2015; Zong *et al.*, 2015).

Con los resultados observados, se puede decir que los cambios de color en las hamburguesas crudas fueron causadas por reacciones de oxidación a lo largo de los 12 días de almacenamiento en refrigeración y que la adición en la dieta con HPA que es rica en compuestos fenólicos, retarda o neutraliza la generación exponencial de los radicales libres; por lo tanto, se inhibe la decoloración de los productos cárnicos.

#### **4.1.1 Estabilidad oxidativa del color en hamburguesas cocinadas de ovino**

Respecto a las hamburguesas que fueron sometidas a un proceso de cocción, también se evaluó la estabilidad oxidativa del color, observando que el valor de L\* (luminosidad) tuvo una tendencia similar en todos los tratamientos a lo largo de los 12 días de almacenamiento en refrigeración (Figura 6); sin embargo, se observa claramente que las hamburguesas elaboradas con carne de ovinos que fueron alimentados con harina de aguacate, mantuvieron un valor más bajo respecto a las control ( $p < 0.05$ ).

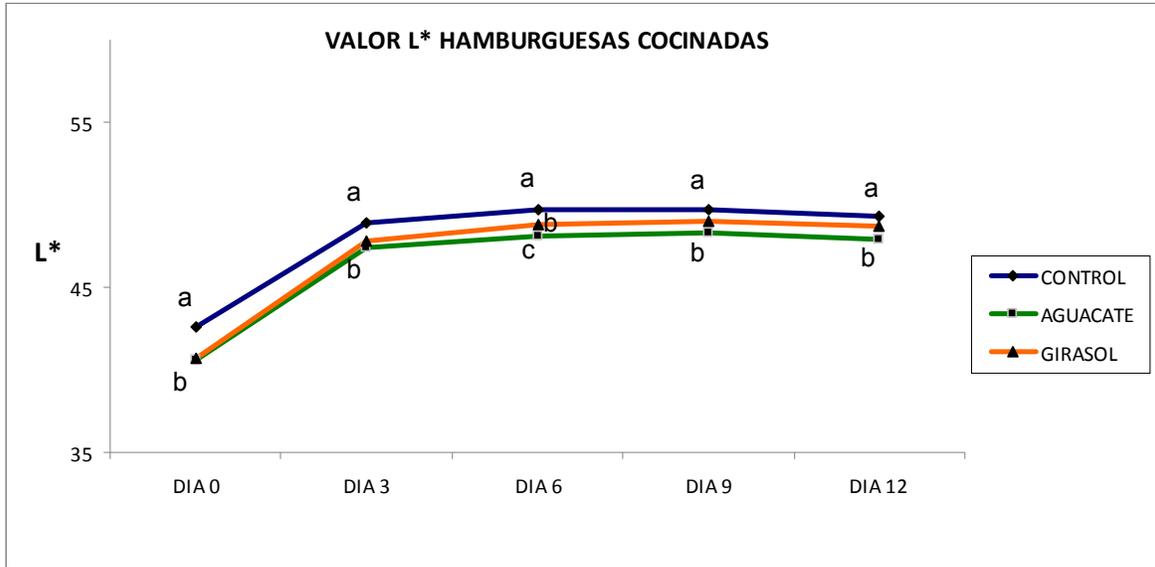


Figura 6. Evolución de la luminosidad superficial en hamburguesas de ovino sometidas a proceso de cocción durante un periodo de almacenamiento en refrigeración de 12 días.

Cuando se avaluó el valor de  $b^*$  en las hamburguesas cocinadas y almacenadas posteriormente en refrigeración durante 12 días (Figura 7), tuvo un comportamiento similar a las hamburguesas crudas, destacando una tendencia constante de estabilidad oxidativa después del día 6. Destacando que las hamburguesas adicionadas con HPA en la dieta de los animales, tuvieron un valor distinto a las control y que de aceite de girasol. Esta tendencia del color amarillo, puede ser atribuida a que durante los procesos oxidativos de los lípidos y sobre todo durante los procesos culinarios (cocción) de la carne, las grasas comienzan a adquirir tonalidades amarillas y a generar aromas de rancidez propios de la oxidación y de las altas temperaturas, por lo que si se observa una protección de los compuestos fenólicos presentes en el aguacate.

Con respecto al valor que determina el color rojo ( $a^*$ ), se puede observar que al momento de someter a altas temperaturas la carne, se pierde la mayor parte del color rojo, y comienza a adquirir tonalidades propias de la carne cocida, principalmente por cambios del estado químico de la mioglobina y su molécula de

hierro, así como por otras reacciones como las de Maillard o de Strecker que se fomentan con la temperatura ocasionando los cambios en la coloración de la carne cocinada. Por lo tanto, los valores positivos altos que tenía la carne cruda, descienden por el proceso de cocción y posteriormente se siguen perdiendo durante los días de almacenamiento en refrigeración.

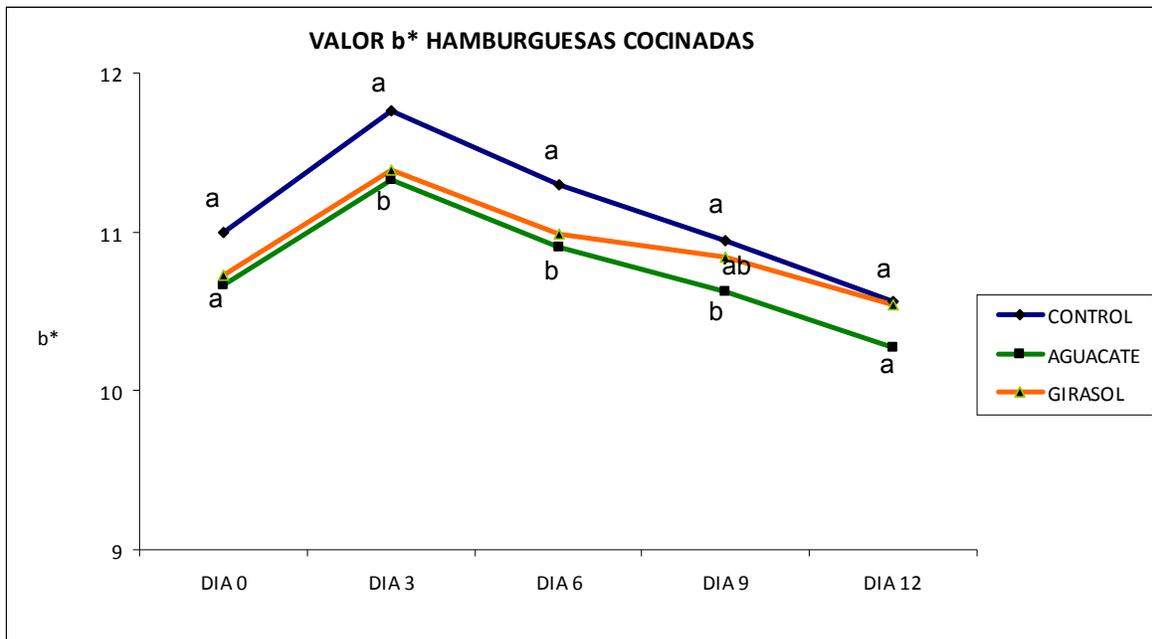


Figura 7. Evolución de los valores de b\* (+ amarillo), durante la medición del color superficial de las hamburguesas de ovino sometidas a proceso de cocción.

Los resultados de este estudio, muestran una tendencia similar en todos los tratamientos; sin embargo, el valor de a\* (Figura 8) alcanzado después del proceso de cocción (alrededor de 9), nos indica que las proteínas contenidas en las hamburguesas con harina de aguacate se encontraban en un estado reducido, es decir, en forma de oximioglobina (OxyMb) ya que obtuvieron significativamente ( $p < 0.05$ ) una lectura más alta después de la cocción que las elaboradas con carne control y girasol; durante los días posteriores a la cocción y en almacenamiento refrigerado, las hamburguesas tuvieron el mismo comportamiento respecto al color rojo sin diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ), posiblemente atribuido a la

desnaturalización y pérdida de los compuestos fenólicos y que se ha demostrado que son sensibles al calor. Por lo tanto, se puede decir el uso de los antioxidantes le dan una mayor estabilidad a las proteínas durante los procesos culinarios de cocción, pero ya no continúa esa protección a lo largo del tiempo. Finalmente es conocido que el proceso de cocción modifica la estructura de la mioglobina y las proteínas miofibrilares desnaturalizándolas y la presencia de antioxidantes y prooxidantes, antes de este proceso, es lo que va a determinar el color de la carne recién cocinada.

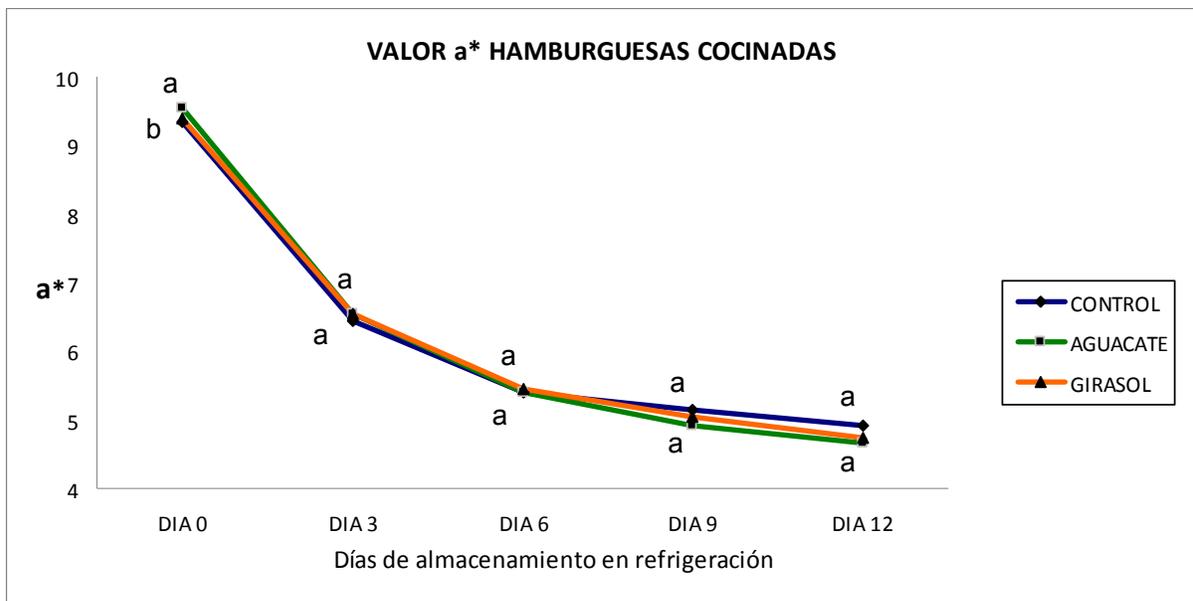


Figura 8. Evolución del color rojo ( $a^* = +$ ) en hamburguesas de ovinos sometidas a cocción y posterior almacenamiento en refrigeración.

Muchos estudios han demostrado que los antioxidantes promueven que en la carne se encuentre la OxyMb que es la responsable de un rojo cereza o la Desoximioglobina (DeoxyMb) que es de un rojo púrpura, estos son los pigmentos en las carnes frescas y aumenta el predominio de formas reducidas del hierro en la Mb, lo que se traduce esencialmente a una mayor estabilidad al color.

Por el contrario, los elementos prooxidantes (como la oxidación de los lípidos, procesos de cocción, entre otros) favorecen la formación de metamioglobina

(MetMb), que se desnaturaliza a una temperatura más baja que las formas reducidas. Los antioxidantes de calidad alimentaria pueden mejorar la estabilidad del color de la carne fresca mediante la promoción de la formación de Deoxy Mby OxyMb (Suman y Joseph, 2016).

La estabilidad oxidativa del color de la carne y los productos cárnicos está dictada principalmente por el contenido de mioglobina, la especie de animal de procedencia, la alimentación, así como la cantidad y tipo de grasa. Ambos productos crudos y cocidos, están permanentemente expuestos a la oxidación, aunque en diferente medida, por lo que, los antioxidantes adicionados en la carne o a través de la alimentación animal, son una excelente estrategia y pueden ser utilizados para controlar los cambios del color ocasionados por oxidación y extender la vida útil de los productos.

#### **4.2 Análisis de metabolitos secundarios de oxidación de lípidos por TBA-RS**

La peroxidación lipídica puede ser cuantificada objetivamente usando el método analítico para determinar las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBA-RS). En la Figura 9, se observan los resultados obtenidos al evaluar la cantidad de malondialdehído (MDA) formado durante la peroxidación de los lípidos presentes en la carne, cuantificada por medio de esta técnica analítica; donde se destaca, como la carne procedente de ovinos que fueron alimentados con la dieta control al someterla a almacenamiento en refrigeración por 12 días, se va formando una cantidad exponencial de MDA, lo que contribuye a corroborar las teorías de los mecanismos de oxidación, que indican que una vez iniciados los procesos oxidativos, se vuelven una reacción en cadena (Frankel, 1998).

Respecto a las hamburguesas crudas procedentes de ovinos que fueron alimentados con una dieta a la que se le adicionó aceite de girasol, se encontró como los valores de MDA se van incrementando paulatinamente al transcurso de los días de almacenamiento en refrigeración, presentan una ligera estabilidad en el día seis, pero la pierden después del noveno día. Sin embargo, las

hamburguesas elaboradas con carne de ovinos alimentados con HPA, muestran una excelente estabilidad oxidativa de los lípidos, durante los primeros seis días de almacenamiento en refrigeración, para posteriormente iniciar con una ligera tendencia de incremento; pero sin llegar, al final del periodo, a tener valores más allá de 0.4 mg de MDA/Kg de carne, valor que presentaron las hamburguesas Control al sexto día de almacenamiento en refrigeración. Se confirma que con la adición de HPA en la dieta se estabilizan los radicales libres que se van generando durante la oxidación de los lípidos y que la presencia de estos antioxidantes en la dieta de animales puede retardar la oxidación y conservar las propiedades fisicoquímicas de la carne (Priolo y Vasta, 2007; Luciano *et al.*, 2009).

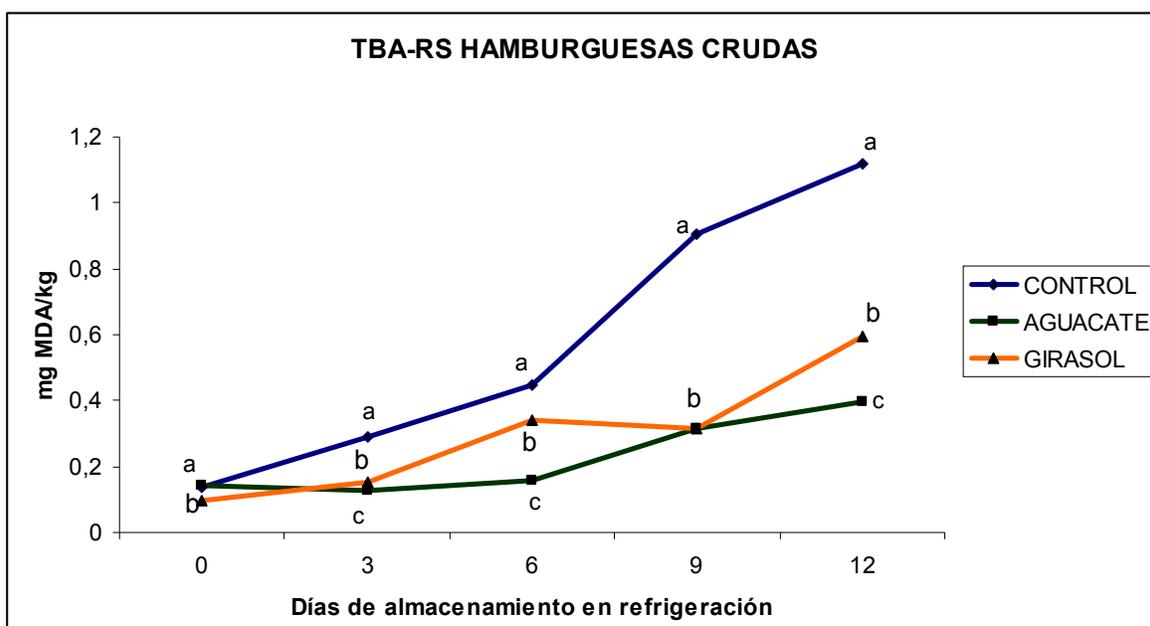


Figura 9. Evolución de la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en hamburguesas crudas de ovinos, almacenadas en refrigeración durante 12 días.

La evidencia de estudios recientes sugieren que los radicales libres y la escisión de los lípidos durante los procesos oxidativos son los responsables de la formación de toxinas, deterioro de la carne y generación de olores, sabores y sabores anómalos; en este sentido, los antioxidantes han demostrado ser

prometedores para mitigar los riesgos químicos de los procesos generados (Jiang y Youling, 2016).

También se le puede atribuir esa protección al hecho de que la cáscara y semilla del aguacate (incluidos en la harina de pasta de aguacate) tienen una gran cantidad de compuestos fenólicos y polifenólicos que son de gran interés debido a sus propiedades antioxidantes, cuando se añade a los alimentos se controla el desarrollo de la rancidez ya que retarda la formación de productos de oxidación que algunos pueden llegar a ser tóxicos, mantienen la calidad nutricional y extienden la vida útil de los productos (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011; Shahidi y Ambigaipalan, 2015).

Desde hace décadas existen numerosas evidencias científicas sobre la mejora de la estabilidad oxidativa de la carne mediante la incorporación de antioxidantes ingeridos en la dieta, ya sean añadidos en el pienso u obtenido de los recursos naturales (Cadenas *et al.*, 2006; Andersen *et al.*, 2003; Cava *et al.*, 2003).

Sobre el comportamiento de las hamburguesas con aceite de girasol se comprende que tenga cierta protección ya que este tiene gran cantidad de carotenoides, que protegen a los ácidos grasos monoinsaturados e insaturados. Estas mejoras en la estabilidad oxidativa de la carne adquieren una mayor importancia cuando los animales son alimentados con dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados, como consecuencias de estrategias que tienen como objetivo mejorar las características tecnológicas, especialmente nutricionales y saludables de la carne (Andrés *et al.*, 2001).

Con respecto a los resultados de TBA-RS en hamburguesas cocinadas el comportamiento fue muy similar, con una mejor protección en las hamburguesas tratadas que las control (Figura 10), aunque los valores son mayores que en las crudas, debido a que durante la cocción se desnaturalizan lípidos y proteínas y se incrementa la oxidación de lípidos, generando una gran cantidad de sustancias y

compuestos responsables de las alteraciones de aromas y sabores; aun así, los valores más bajos son los que presentan las hamburguesas de las dietas a base de HPA y aceite de girasol, contrastadas con las hamburguesas control.

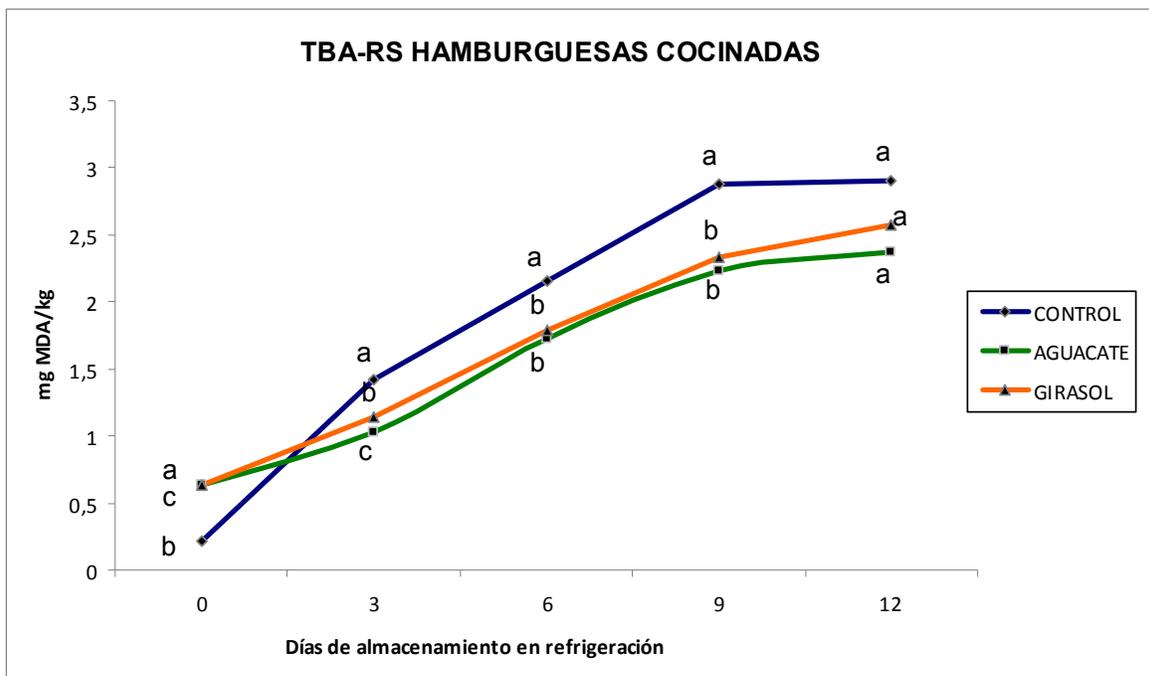


Figura 10. Evolución de la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en hamburguesas cocinadas de ovinos y posterior almacenamiento en refrigeración.

### 4.3 Contenido de ácidos grasos

Con respecto a los perfiles de ácidos grasos de las diferentes dietas utilizadas como fuente de variación en la alimentación de ovinos, en el Cuadro 3 se puede observar que todas las dietas presentan perfiles diferentes, con mayor porcentaje de insaturados en las dietas que contenían aceite de girasol y harina de pasta de aguacate. Es comprensible porque en los aceites vegetales los ácidos grasos insaturados son los mayoritarios.

Cuadro 3. Perfil de ácidos grasos de las dietas utilizadas en la alimentación de los ovinos.

ÁCIDOS GRASOS	HPA <sup>1</sup>	CONTROL	ACEITE DE GIRASOL
C14	0.20	0.27	0.10
C16	18.88	15.36	6.94
C16:1	4.78	0.77	0.42
C18	2.12	2.84	2.02
C18:1 (n-9)	35.61	28.40	52.93
C18:2 (n-6)	32.68	42.17	27.79
C18:3 (n-3)	3.78	6.50	6.76
C20:0	0.71	1.14	1.44
C20:1	0.22	0.25	0.93
C22	0.28	0.46	0.37
C23	0.64	1.03	0.19
C24	0.29	0.40	0.21
ΣSFA <sup>2</sup>	22.93	21.23	11.17
ΣMUFA <sup>3</sup>	40.61	29.42	54.28
ΣPUFA <sup>4</sup>	36.46	48.67	34.55
ΣUFA <sup>5</sup>	77.07	78.09	88.83
ΣUFA/SFA	3.36	3.68	7.95
Ω-9	35.83	28.65	53.85
Ω-6	36.46	48.67	34.55

Expresado como porcentaje del total de ácidos grasos analizados. <sup>1</sup>HPA: Harina de pasta de aguacate; <sup>2</sup> SFA: ácidos grasos saturados; <sup>3</sup> MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; <sup>4</sup> PUFA: ácidos grasos poliinsaturados; <sup>5</sup> UFA ácidos grasos insaturados.

En el Cuadro 4 se observan los resultados obtenidos de los análisis químicos proximales de la carne de los ovinos del presente experimento. Los distintos tratamientos aplicados como alimentación animal no influyeron para que hubiese efecto significativo ( $p > 0.05$ ) con respecto al contenido de grasa intramuscular, humedad, proteína, pH y CRA (Capacidad de retención de agua) en muestras obtenidas del músculo *longissimus dorsi*. Se puede decir que los tratamientos no influyeron en los valores que son indicativos de calidad de la carne y que pueden ser influenciados por muchos factores (Hopkins y Geesink, 2004).

En este mismo Cuadro 4, se observa que los valores del color, L\*, a\* y b\* que fueron tomados en el músculo *longissimus dorsi* no fueron distintos significativamente ( $p > 0.05$ ). Estos resultados son congruentes con los valores que

se encontraron de estabilidad oxidativa en color en los sistemas modelos, y nos habla del buen estado de las proteínas miofibrilares de la carne de rumiantes y la alta cantidad de mioglobina presente en las fibras musculares. Por lo que se ha estudiado se sabe que la estabilidad oxidativa del color de la carne y los productos cárnicos está dictada principalmente por el contenido de mioglobina, la especie de animal de procedencia, la alimentación, así como la cantidad y tipo de grasa (Rodríguez-Carpena *et al.*, 2011).

Cuadro 4. Determinaciones químico-proximales de la carne de ovinos empleados en el experimento.

	<b>HPA</b>	<b>ACEITE DE GIRASOL</b>	<b>CONTROL</b>
Grasa (%)	4.05	3.60	4.09
Humedad (%)	26.83	26.26	26.45
Proteína (%)	18.28	18.25	17.63
pH	6.78	6.77	6.71
CRA 0-24 h (g)	2.37	2.75	2.58
CRA 0-48 h (g)	2.76	3.24	2.99
Color L*	34.75	34.67	34.57
Color a*	19.96	17.90	19.09
Color b*	4.43	2.98	3.87

HPA: harina de pasta de aguacate; CRA 0-24: Capacidad de retención de agua de 0 a las 24 horas; CRA 0-48: Capacidad de retención de agua de inicio hasta las 48 horas; L\*: Luminosidad; a\*: Color rojo; b\*: color amarillo.

El empleo de tratamientos de alimentación para cambiar la composición de ácidos grasos de la carne ha sido un tema de investigación popular en los últimos años. Al utilizar harina de pasta de aguacate o aceite de girasol en las dietas de los ovinos se esperaba que hubiera un cambio en los perfiles de ácidos grasos en la carne; sin embargo, no se observó una modulación distinta promovida por la dieta, lo que permite inferir que los nutrimentos que aportan los ingredientes de las dietas, sufren transformaciones propias del metabolismo ruminal, para finalmente ser modificados en compuestos distintos que son absorbidos a nivel intestinal. Por

lo tanto, se evidencía que no hay una influencia por la composición de la dieta, con la composición de la carne.

Cuadro 5. Determinación del perfil de ácidos grasos de la carne de ovinos empleados en el experimento.

ÁCIDOS GRASOS	HPA <sup>1</sup>	ACEITE DE GIRASOL	CONTROL
C12:0	0.07	0.08	0.09
C14:0	2.11	2.23	2.09
C14:1	0.17	0.17	0.17
C15:0	0.24	0.24	0.23
C16:0 (n-7)	26.27 <sup>ab</sup>	24.08 <sup>a</sup>	27.08 <sup>b</sup>
C16:1	2.14	1.70	1.90
C17:0	0.83	0.73	0.83
C18:0	15.96	16.12	14.75
C18:1 (n-9)	45.32	46.39	45.54
C18:2 (n-6)	4.12	4.60	3.80
C18:3 (n-3)	0.45	0.51	0.47
C20:0	1.27	1.19	1.46
C20:1	0.10 <sup>b</sup>	0.13 <sup>a</sup>	0.10 <sup>b</sup>
C20:3 (n-6)	1.27	1.19	1.46
C23	0.17	0.21	0.19
C24:1	0.24	0.26	0.29
C22:6 (n-3)	0.04	0.05	0.06
ΣSFA	45.71	44.22	45.24
ΣMUFA	48.20	49.07	48.39
ΣPUFA	6.01	6.46	5.91
ΣUFA	54.21	55.53	54.31
ΣUFA/SFA	1.19	1.25	1.21
Ω-9	46.93	47.98	47.39
Ω-6	4.69	5.21	4.39
Ω-3	0.05	0.06	0.06

<sup>1</sup>HPA: harina de pasta de aguacate. Expresados como porcentaje del total de ácidos grasos analizados. SFA ácidos grasos saturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácido grasos poliinsaturadas; UFA: ácidos grasos insaturados.

Algo que sucede en los ovinos es que el rumen descompone los ácidos grasos de la dieta y pasan por procesos fermentativos y de transformación por los microorganismos presentes en el rumen de los animales poligástricos y la

incorporación de los ácidos grasos en los tejidos son distintos a lo que se le da en su dieta debido a que son absorbidos a nivel intestinal en forma de ácidos grasos volátiles y a nivel de tejidos siguen distintas rutas metabólicas para finalmente fijarse en los tejidos.

Los altos niveles de PUFA en la carne pueden conducir a una oxidación lipídica *postmortem* más acelerada que puede afectar negativamente el sabor y el color de la carne cocinada; los músculos de carne de ovino son particularmente susceptibles a la oxidación de los lípidos, el uso de antioxidantes como la vitamina E es la clave para controlar la oxidación y producir productos de buena calidad con niveles de AGPI n-3 que exceden los valores "fuente", si las concentraciones musculares de vitamina E se mantienen a 3-4 mg/kg. Esto se logra alimentando con pasto que contiene vitamina E de forma natural, o suplementando las dietas con niveles altos de vitamina E (200-500 mg/kg). Sin embargo, incluso con la protección antioxidante, la oxidación de los lípidos puede desencadenarse cuando los procedimientos *postmortem* promueven la oxidación.

Desde un punto de vista nutricional, la composición de ácidos grasos de la carne de ovinos no se ve particularmente afectado por los cambios en el sistema de producción que puede modificar el ambiente del rumen y los procesos de biohidrogenación de ácidos grasos insaturados de las dietas.

La pulpa de aguacate y el aceite de girasol tienen un alto contenido de ácidos grasos insaturados; en esta investigación se utilizó harina de pasta de aguacate y aceite de girasol y estos ácidos grasos no se fijaron en los tejidos; por lo tanto, no se puede modular el contenido de ácidos grasos de la carne a través de la dieta, a diferencia de otros experimentos donde una alta proporción de forraje en la dieta promueve la vía de biohidrogenación regular que acumula ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) n-3 y ácido vaccénico (11t-18:1) en la leche y carne. Por el contrario, una alta proporción de concentrado en la dieta provoca una modificación en la vía de biohidrogenación regular hacia la acumulación de 10t - en lugar de 11t

-18:1 y una mayor relación n-6/n-3 en leche y carne (Bessa *et al.*, 2015; Shingfield y Grinari, 2007).

#### **4.4 Evaluaciones sensoriales**

Para ser óptimo el aspecto sensorial de la carne, no se debe basar únicamente en el sabor o palatabilidad sino que se debe incluir numerosos atributos. La terniza por sí sola no es suficiente y otros aspectos de la palatabilidad como la jugosidad, la textura y el desarrollo del sabor también son necesarios; los factores que afectan los componentes sensoriales óptimos se extienden desde la producción animal e incluyen genética, edad del animal, reducción del estrés, nutrición y control del proceso para evitar endurecimiento. Los factores a considerar también dependen del uso final de la carne y de la manera en que se cocina (Devine y Dikeman, 2014).

En la Figura 11 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación sensorial de las hamburguesas cocinadas, los resultados para los atributos de apariencia, color, dureza en boca y sabor, no fueron distintos estadísticamente ( $p > 0.05$ ). Se pudo observar que el panel de catadores no entrenados no tuvo una influencia en los resultados.

Respecto al atributo del sabor de la carne de borregos, se puede notar que no resultó agradable para los catadores. Lo anterior se puede asociar a que la carne de borrego es un gusto adquirido y por la baja cultura de consumo de carne de borregos en esta región, no fue de su agrado; quizás ellos nunca la habían consumido solo con poca sal, sin ningún otro condimento como en el caso del consumo tradicional de borrego en forma de birria o barbacoa. Desde un punto de vista aromático, los compuestos volátiles responsables del sabor característico de la carne de cordero son generados por reacciones químicas tales como oxidación o escisión de lípidos durante la cocción del cordero; por lo tanto, el perfil de ácidos grasos de la carne asociada a un sistema de producción pudo afectar la calidad sensorial, sin embargo, al no encontrar diferencias o cambios en los perfiles de

ácidos grasos de la carne, las sensaciones aromáticas fueron similares en todos los tratamientos. La mayoría de los compuestos volátiles de carbonilo se generan a partir de la oxidación de ácidos grasos insaturados y pueden ser un poderoso odorante (Vasta *et al.*, 2012).

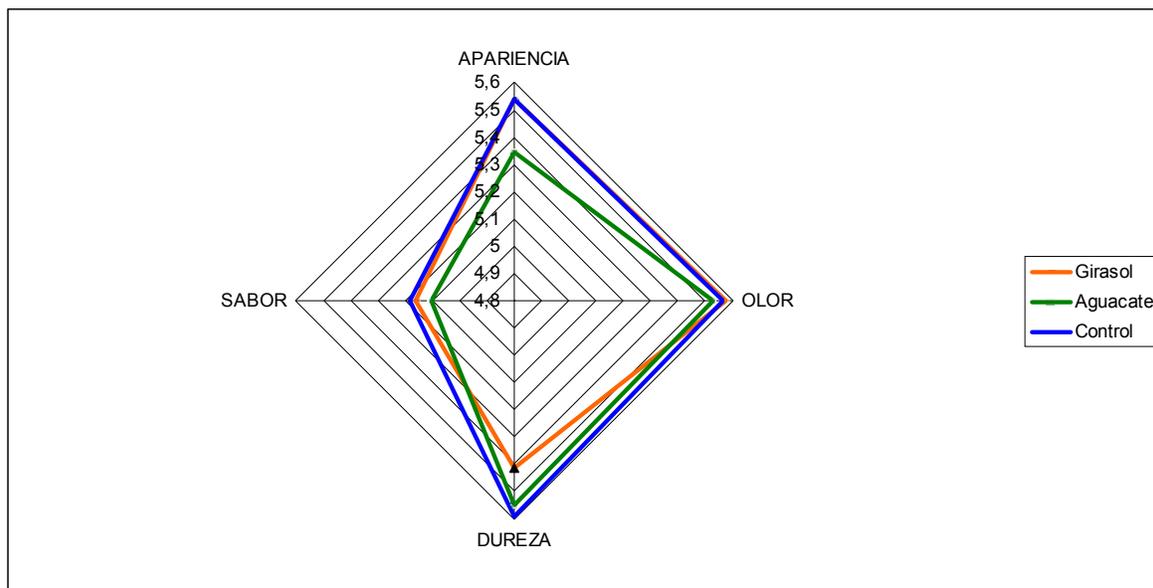


Figura 11. Resultados de apariencia, olor, dureza en boca y sabor en hamburguesas de ovinos.

Durante la cocción, los compuestos de carbonilo que se originan con la oxidación de lípidos también pueden reaccionar con compuestos aminos, es decir no enzimáticos, donde los fuertes olores carnosos derivados de N-compuestos heterocíclicos como alquil pirazinas y de azufre como son los compuestos 2-metil-3-furanthiol se forman (Elmore y Mottram, 2006). El perfil volátil del cordero cocido podría verse afectado no solo por factores ante mortem (es decir, raza, alimentación), si no también por otros factores post-mortem relacionados con el análisis, es decir, preparación de la muestra, método de cocción, método de extracción, no observados en este trabajo (Vasta y Priolo, 2006; Vasta *et al.*, 2007).

#### **4.5 Expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico**

Como se puede observar en el Cuadro 6 al utilizar HPA en la alimentación de los ovinos, se observa una mayor expresión relativa en todos los genes evaluados en este estudio, ya que se utilizó el método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  que sólo es aplicable para una estimación rápida de la proporción relativa de la expresión genética en estudio (Pfaffl, 2001).

Con respecto al gen Acetil-CoA carboxilasa (ACACA), que es una enzima limitante de la velocidad en la biosíntesis de ácido palmítico y ácidos grasos de cadena larga, esta enzima se expresa en todas las células encontrando niveles más altos en tejidos lipogénicos como el hígado, el tejido adiposo y la glándula mamaria durante la lactancia. ACACA cataliza la carboxilación de acetil-CoA dependiente de ATP para formar malonil-CoA, que es el sustrato para la síntesis de ácido palmítico (Smith *et al.*, 2003) y ácidos grasos de cadena larga (acil-CoA > C22: 0) (Leonard *et al.*, 2004) por la enzima ácido graso sintasa (FAS).

Los resultados de otros estudios proporcionan evidencia de que PPARG regula la expresión y actividad de la esteroil-coenzima A desaturasa (SCD) y de ácidos grasos monoinsaturados en glándulas mamarias de rumiantes. Adicionalmente, la expresión de FASN, ACACA y SREBF aumenta significativamente con la sobreexpresión de PPARG el cual destaca un papel importante en la regulación de la transcripción de SCD y por lo tanto, la composición de MUFA (Bionaz y Loo, 2008), este contribuye a la regulación coordinada de componentes de la vía, vinculando directamente a los promotores de los genes diana, incluidos FASN, ACACA y SCD (Shimano, 2001).

FASN es una enzima multifuncional que cataliza la síntesis de ácidos grasos *de novo* en las células; en los rumiantes participa en la síntesis de cadena corta, cadena media y la mitad de la cantidad de ácidos palmíticos (C16:0) (Zhu *et al.*, 2014).

Cuadro 6. Resultados de la expresión de los distintos genes evaluados en carne de ovinos alimentados con la adición de harina de pasta de aguacate o aceite de girasol en la dieta.

TRATAMIENTO	ACACA	PPARG	SREBF1	FASN	SCD	FASB
AGUACATE	1.4175 <sup>a</sup>	1.0413 <sup>a</sup>	1.1138 <sup>a</sup>	1.1613 <sup>a</sup>	1.0413 <sup>a</sup>	1.2050 <sup>a</sup>
GIRASOL	1.1138 <sup>b</sup>	1.0713 <sup>a</sup>	1.0250 <sup>b</sup>	1.0025 <sup>b</sup>	0.9900 <sup>b</sup>	1.0763 <sup>b</sup>
CONTROL	1.0000 <sup>c</sup>	1.000 <sup>b</sup>	1.0000 <sup>c</sup>	1.0000 <sup>b</sup>	1.0000 <sup>b</sup>	1.0000 <sup>c</sup>
Total	1.1767	1.0379	1.0458	1.0542	1.0100	1.0938

ACACA: acetil-CoA carboxilasa; PPARG: Peroxisoma proliferador activador del receptor gamma; SREBF1: Proteína de unión al elemento regulador del estero; FASN: Ácido graso sintetasa; SCD: Esteril CoA desaturasa; FASB: Proteína transportadora de ácido graso isoforma. Literales distintas por columna (<sup>a-c</sup>), indican diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) por tratamiento.

El análisis de ácidos grasos reveló niveles más bajos de síntesis de ácidos grasos *de novo* que actúan al mismo tiempo con la elevación de niveles de ácido oleico, indicando efectos inhibitorios de alta biodisponibilidad de ácidos grasos C18 en la síntesis de novo lipídica en rumiantes (Hailea *et al.*, 2016).

Stearoyl-CoA desaturasa (SCD) es la enzima limitante de la velocidad en la biosíntesis de ácidos grasos monoinsaturados, que introduce un doble enlace *cis* entre los carbonos 9 y 10 en un espectro de ácidos grasos saturados, con preferencias para C16:0 y C18:0; esta enzima juega un papel clave en el metabolismo de los lípidos y el mantenimiento de la fluidez de la membrana, basada en la importancia fisiológica de relación entre ácidos grasos saturados y monoinsaturados. La expresión del gen SCD está regulada por grasas poliinsaturadas y colesterol (Ntambi, 1999).

En este estudio se encontró que los borregos de los tres tratamientos tenían una mayor proporción de ácido oleico que puede indicar una mayor actividad de estearoil-CoA desaturasa. Se ha demostrado que los cambios en la expresión génica y la actividad de esta enzima podrían ser importantes factores que influyen

en las diferencias en la composición de ácidos grasos en la carne de cordero (Dervishi *et al.*, 2011).

FABP3 se expresa predominantemente en el corazón, el músculo esquelético y el tejido adiposo marrón y está involucrado en el metabolismo de los lípidos y la glucosa, se ha demostrado previamente que el aumento de la expresión de FABP3 en músculos y tejido adiposo marrón se correlaciona con la obesidad en ratones y que mejora la resistencia a la insulina inducida por palmitato estableciendo que FABP3 es importante en el desarrollo de la obesidad (Yamashita *et al.*, 2008).

FABP3 también se expresa en el cerebro adulto y regula la absorción de ácidos grasos poliinsaturados y el metabolismo en las neuronas, implicando la participación de FABP3 en funciones neurológicas (Shimamoto *et al.*, 2014; Cheon *et al.*, 2003).

En ovinos, pocos estudios se han centrado en la variabilidad genética de genes relacionados con el metabolismo de los lípidos. Se requieren mayores esfuerzos para identificar las variantes genéticas que pueden usarse como marcadores relacionados con el contenido de grasa y composición de ácidos grasos de los productos derivados de esta especie y para evaluar el posible uso de ovejas como modelo animal para enfermedades humanas relacionadas con el metabolismo lipídico (García-Fernández *et al.*, 2009).

## V. CONCLUSIONES

1.- La carne de ovinos alimentados con harina de pasta de aguacate en la dieta, conservó más uniforme el color y la estabilidad oxidativa de lípidos a lo largo del tiempo de 12 días de almacenamiento; por lo que puede ser considerada como una excelente estrategia, para controlar los procesos de oxidación y extender la vida útil de los productos cárnicos.

2.- Con respecto a los atributos sensoriales (apariencia, olor, dureza en boca y sabor) estos no se vieron afectados por la influencia de las dietas, ni la calidad de la grasa de la carne ya que los procesos oxidativos al momento de la cocción, considerado como día cero, no habían comenzado; por lo tanto, no se percibieron compuestos volátiles anómalos.

3.- La harina de pasta de aguacate como ingrediente en la dieta de ovinos, favoreció la expresión de los genes ACACA, PPARG, SREBF1, FASN, SCD y FASB relacionados con el metabolismo lipídico; sin embargo, la cantidad y calidad de la grasa de los ingredientes utilizados en las dietas, no influyó en la modulación de los perfiles de ácidos grasos intramusculares de la carne del músculo *Longissimus dorsi* de los animales.

## VI. LITERATURA CITADA

- Andersen, M.L.; Lauridsen, R.K.; Skibsted, L.H. 2003. Optimising the use of phenolic compounds in foods. In: Phytochemical functional foods. I. Johnson & G. Williamson (Eds.). Woodhead Publishing, Ltd. Cambridge. pp. 315-346.
- Amine, L.S.; Smith, J.A. 2009. Challenges to modern consumer segmentation in a changing world: The need for a second step. *Multinational Business Review*. 17:71–100.
- Angood, K.M.; Wood, J.D.; Nute, G.R.; Whittington, F.M.; Hughes, S.I.; Sheard, P.R. 2008. A comparison of organic and conventionally produced lamb purchased from three major UK supermarkets: Price, eating quality and fatty acid composition. *Meat Science*. 78:176-184.
- Andrés, A.L.; Cava, R.; Mayoral, A.L.; Tejeda, J.F.; Morcuende, D.; Ruiz, J. 2001. Oxidative stability and fatty acid composition of pig muscles as affected by rearing system, crossbreeding and metabolic type of muscle fibre. *Meat Science*. 59:39-47.
- Andrés, S.; Silva, A.; Soares-Pereira, A.L.; Martins, C.; Bruno-Soares, A.M.; Murray, I. 2008. The use of visible and near infrared reflectance spectroscopy to predict beef *M-longissimus thoracic et lumborum* quality attributes. *Meat Science*. 78(3):217-224.
- Anzaldúa, M.A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 220 p.
- A.O.A.C. 2012. *Official Methods of Analysis*. 19<sup>th</sup> ed. Gaithersburgh, Maryland: Association of Official Analytical Chemists.

- Avilés-Rios, E.D.; Espinoza-García, J.A.; Rentería-Flores, J.A.; Mejía-Guardarrama, C.A.; Mariscal-Ladín, G.; Cuarón-Ibarguengoytia, J.A. 2009. Nontraditional available ingredients which potential to be used in gestating sow feeding in The Mexican Bajío. *Veterinaria Mexico*. 40(4):357-370.
- Azizi, S.N.; Najafzadeh, S. 2008. Fatty acids and volatile compounds in avocado cultivated in North of Iran. *World Applied Sciences Journal*. 5:01-04.
- Balogh, Z.; Gray, J.I.; Gomaa, E.A.; Booren, A.M. 2000. Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food and Chemical Toxicology*. 38:395–401.
- Bessa, R.J.; Alves, S.; Santos-Silva, J. 2015. Constraints and potentials for the nutritional modulation of the fatty acid composition of ruminant meat. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 117:1325–1344.
- Bionaz, M.; Loores, J.J. 2008. Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. *BMC Genomics*. 9:366.
- Brewer, M.S. 2011. Natural antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 10:221–247.
- Cadenas, E.; Paked, L.; Traber, M.G. 2006. Antioxidants and redox impacts on cell function- A tribute to Helmut Sies. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 595:94:99.
- Calder, P.C. 2015. Functional roles of fatty acids and their effects on human health. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 39:18–32.

- Calderón-Oliver, M.; Escalona-Buendía, H.B.; Medina-Campos, O.N.; Pedraza-Chaverri, J.; Pedroza-Islas, R.; Ponce, E. 2016. Optimization of the antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado byproducts. *LWT - Food Science and Technology*. 65:46-52.
- Cambero, M.I.; Fernández, L.; García, M.L.; García de Fernando, G.; De la Hoz, L.; Selgas, M.D. 2005. Características generales de la carne y componentes fundamentales. En: Ordoñez, J.A. (ed.), *Tecnología de los Alimentos*. Vol 2. Síntesis, S.A. Madrid. pp. 170-184.
- Carpenter, R.; Lyon, D.; Hasdell, T. 2000. *Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de alimentos*. Editorial Acribia. Segunda ed. Zaragoza, España. 210 p.
- Cava, R.; Estévez, M.; Ruiz, J.; Morcuende, D. 2003. Physicochemical characteristics of three muscles from free-range reared Iberian pigs slaughtered at 90 kg live weight. *Meat Science*. 63:533–541.
- Cava, R.; Ruiz, J.; López-Bote, C.; Martín, L.; García, C.; Ventanas, J.; Antequera, T. 1997. Influence of finishing diet on fatty acid profiles of intramuscular lipids triglycerides and phospholipids in muscle of Iberian pig. *Meat Science*. 45:263–270.
- Cert, A.; Moreda, W.; Pérez-Camino, M.C. 2000. Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. *Journal of Chromatography A*. 881(1-2): 131-148.
- Cheon, M.S.; Kim, S.H.; Fontoulakis, M.; Lubec, G. 2003. Heart type fatty acid binding protein (H-FABP) is decreased in brains of patients with Down syndrome and Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*. Supplement pp. 225-234.

- Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) .1986. Colorimetry. 2nd Edition, Publication CIE No. 15.2. Commission Internationale de l'Eclairage, Vienna.
  
- Devine, C.; Dikeman, M. 2014 Encyclopedia of Meat Sciences 2nd Edition. Write a review. Academic Press. 1712 p.
  
- Duran-Montgé, P.; Theil, P.K.; Lauridsen, C.; Esteve-Garcia, E. 2009. Dietary fat source affects metabolism of fatty acids in pigs as evaluated by altered expression of lipogenic genes in liver and adipose tissues. *Animal*. 3(4):535-542.
  
- Dervishi, E.; Serrano, C.; Joy, M.; Serrano, M.; Rodellar, C.; Calvo, J.H. 2011. Effect of feeding system in the expression of genes related with fat metabolism in semitendinosus muscle in sheep. *Meat Science*. 89:91-97.
  
- Elias, R.J.; Kellerby, S.S.; Decker, E.A. 2008. Antioxidant activity of proteins and peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 48:430-441.
  
- Elmore, J.S.; Mottram, D.S. 2006. The role of lipid in the flavour of cooked beef. *Developments in Food Science*. 43:375-378.
  
- Engel, E.; Ratel, J.; Bouhlel, J.; Planche, C.; Meurillon, M. 2015. Novel approaches to improving the chemical safety of the meat chain towards toxicants. *Meat Science*. 109:75-85.
  
- Estévez, M.; Morcuende, D.; Cava, R. 2003. Physico-chemical characteristics of M. Longissimus dorsi from three lines of free-range reared Iberian pigs slaughtered at 90 kg live-weight and commercial pigs: a comparative study. *Meat Science*. 64:499–506.

- Estévez, M.; Morcuende, D.; Ventanas, S. 2008. Handbook of Processed Meats and Poultry Analysis Chapter 8. Determination of Oxidation. Edited by Leo M.L. Nollet; Fidel Toldra. CRC Press. pp. 141-162.
- FAO (2014). FAO Statistical databases, agricultural data. <<http://faostat.fao.org/>>. fecha de consulta: 18 de agosto de 2017.
- Faustman, C.; Sun, Q.; Mancini, R.; Suman, S.P. 2010. Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. Meat Science. 86:86-94.
- Folch, L.; Lees, M.; Sloane-Stanley, C.H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. Journal of Biological Chemistry. 226:497–509.
- Frankel, E.N. 1998. Lipid Oxidation. The Oily Press Ltd. Dundee. pp. 1-303.
- Fránquez, C.P. 2013. Estabilidad oxidativa y calidad de la carne de cerdos alimentados con la inclusión de fruto entero de aguacate de desecho. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Nayarit. México.
- García-Cruset, S.; Carpenter, K.L.H.; Codony, R.; Guardiola, F. 2002. Cholesterol oxidation products and atherosclerosis. In: Cholesterol and phytosterol oxidation products: analysis, occurrence and biological effects. pp 241-277.
- García-Fernández, M.; Gutiérrez-Gil, B.; García-Gámez, E.; Arranz, J.J. 2009. Genetic variability of the Stearoyl-CoA desaturase gene in sheep. Molecular and Cellular Probes. 23:107–111.

- Ganhão, R.; Estévez, M.; Morcuende, D. 2011. Suitability of the TBA method for assessing lipid oxidation in a meat system with added phenolic-rich materials. *Food Chemistry*. 126:772-778.
- Gerber, S.; Eochenberger, B.; Pfirter, H.P.; Wenk, C. 2006. Influence of different dietary vitamin C levels on vitamin E and C content and oxidative stability in various tissues and stored m. *longissimus dorsi* of growing pigs. *Meat Science*. 73(2):362-367.
- Gouegni, E.; Abubakar, H. 2013. Phytochemical, Toxicological, Biochemical and Haematological Studies on Avocado (*Persea americana*) in Experimental Animals. *Official Journal of Nigerian Institute of Food Science and Techonology*. 31:64-69.
- González-Calvo, L.; Ripoll, G.; Molino, F.; Pérez-Velasco, L.; Sarto, P.; Serrano, M.; Joy, M; Calvo, J.H. 2013. Efecto de la suplementación con vitamina E en los ácidos grasos poliinsaturados y en la expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico en *I. thoracis* de corderos ligeros. *XV Jornadas sobre Producción Animal*. pp. 556-558.
- Grageola, F. 2009. Aprovechamiento del aguacate de desecho en la alimentación del cerdo Pelón Mexicano y cerdo comercial. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Nayarit. México. pp 35-39.
- Gray, J.I.; Gomaa, E.A.; Buckley, D.J. 1996. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*. 43:111:126.
- Grunert, K.G.; Bredahl, L.; Brunsø, K. 2004. Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector - A review. *Meat Science*. 66(2):259–272.

- Hailea, A.B.; Zhanga, W.; Wanga, W.; Yanga, D.; Yi, Y.; Luoa, J. 2016. Fatty acid synthase (FASN) gene polymorphism and early lactation milk fat composition in Xinong Saanen goats. *Small Ruminant Research*. 138:1–11.
- Hanczakowska, E; Świątkiewicz, M.; Grela, E.R. 2015. Effect of dietary inclusion of a herbal extract mixture and different oils on pig performance and meat quality. *Meat Science*. 108:61-66.
- Hernández. L.S.H. 2016. Valor nutritivo de pasta de aguacate y su efecto en la estabilidad oxidativa y calidad sensorial de carne de cerdo. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Nayarit. México.
- Hernández-López, S.H.; Rodríguez-Carpena, J.G.; Lemus-Flores, C. Grageola-Nuñez, F.; Estévez, M. 2016. Avocado waste for finishing pigs: Impact on muscle composition and oxidative stability during chilled storage. *Meat Science*. 116:186–192.
- Hopkins, D.L.; Hegarty, R.S. 2004. Effect of sire type and plane of nutrition on lamb loin shear force, myofibrillar fragmentation index and calcium concentration. *Journal of Muscle Foods*, 15(2):109–120.
- Inserra, L.; Luciano, G.; Bella, M.; Cilione, C.; Basile, P.; Lanza, A. 2015. Effect of including carob pulp in the diet of fattening pigs on the fatty acid composition and oxidative stability of pork. *Meat Science*. 100:256-261.
- Issa, M.; Cheorun Jo, k.; Tariq, M.R. 2015. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors—A systematic review. *Meat Science*. 110:278-284.
- Jiang, J.; Youling, L.X. 2016. Natural antioxidants as food and feed additives to remote health benefits and quality of meat products: A review. *Meat Science*. 120:107-117.

- Jost, L.K.; Dinkel, C.A.; Costello, W.J. 1983. Beef tenderness and palatability as influenced by chemical measures and quality and yield grade factors. *Journal of Animal Science*. 56(5):1077–1087.
- Kasapidou, E.; Wood, J.D.; Richardson, R.I.; Sinclair, L.A.; Wilkinson, R.G.; Enser, M. 2012. Effect of vitamin E supplementation and diet on fatty acid composition and on meat colour and lipid oxidation of lamb leg steaks displayed in modified atmosphere packs. *Meat Science*. 90:908–91.
- Karre, L.; Lopez, K.; Getty, K.J.K. 2013. Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Science*. 94:220–227.
- Khan, M.I.; Jo, C.; Tariq, M.R. 2015. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors- A systematic review. *Meat Science*. 110:278-284.
- Kumar, Y.; Yadav, D.N.; Ahmad, T. ;Narsaiah, K. 2015. Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 14:796–812.
- Kuuliala, L.; Pippuri, T.; Hultman,; Auvinen, S.M.; Kolppo, K.; Nieminen, T.; Karp, M.; Björkroth, J.; Kuusipalo, J.; Jääskeläinen, E. 2015. Preparation and antimicrobial characterization of silver-containing packaging materials for meat. *Food Packaging and Shelf Life*. 6:53-60.
- León, B.G.G.; Carrasco, G.A.A. 2012. La carne de calidad: cuestión de bienestar. *La Ciencia y el Hombre*. Vol XXV. No. 2. <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol25num2/articulos/carne/>
- Leonard, A.E.; Pereira, S.L.; Sprecher, H.; Huang, Y.S. 2004. Elongation of long-chain fatty acids. *Progress in Lipid Research*. 43:36–54.

- Leonarduzzi, G.; Sottero, B.; Poli, G. 2002. Oxidized products of cholesterol: dietary and metabolic origin, and proatherosclerotic effects (Review). *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 13(12):700–710.
- Lu, Q.Y.; Arteaga, J.R.; Zhang, Q.; Huerta, S.; Go, V.L.W.; Heber, D. 2009. Inhibition of prostate cancer cell growth by an avocado extract: role of lipid-soluble bioactive substance. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 16:23-30.
- Luciano, G.; Monahan, F.J.; Vasta, V.; Biondi, L.; Lanza, M; Priolo, A. 2009. Dietary Tannins improve lamb meat colour stability. *Meat Science*. 8:120-125.
- Lynch, M.P.; Kerry, J.P.; Buckley, D.J.; Faustman, C.; Morrissey, P.A. 1999. Effect of dietary vitamin E supplementation on the colour and lipid stability of fresh, frozen and vacuum-packaged beef. *Meat Science*. 52:95–99.
- Mancini, R.A.; Hunt, M.C. 2005. Current research in meat color. *Meat Science*. 71:100-121.
- Manso, T.; Gallardo, B.; Guerra-Rivas, C. 2016. Modifying milk and meat fat quality through feed changes. *Small Ruminant Research*. 142:31-37.
- McAfee, A.J.; McSorley, E.M.; Cuskelly, G.J.; Moss, B.W.; Wallace, J.M.W.; Bonham, M.P.; Fearon, A.M. 2010. Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*. 84:1-13.
- Mapiye, C.; Vahmani, P.; Mlambo, V.; Muchenje, V.; Dzama, K.; Hoffman, L.C.; Dugan, M.E.R. 2015. The trans-octadecenoic fatty acid profile of beef: Implications for global food and nutrition security. *Food Research International*. 76(Part 4):992-1000.

- Martínez-Cerezo, S.; Sañudo C.; Medel, I.; Delfa, R.; Sierra, I.; Beltrán, J.A.; Cepero, R.; Olleta, J.L. 2005. Breed, slaughter weight and ageing time effects on sensory characteristics of lamb. *Meat Science*. 69:571-578.
- Mohsen, A.; Hosein, M.S.; Mohammad, M.S.; Mostafa, S.; Hamid, K. 2016. Polymorphism in the SCD gene is associated with meat quality and fatty acid composition in Iranian fat- and thin-tailed sheep breeds. *Livestock Science*. 188:81-90.
- Morales, A.M. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Editorial Acribia. Zaragoza España. 214 p.
- Nakamura, T.; Nguyet, V.T.; Kato, S.; Arii, Y.; Akino, T.; Izawa, S. 2017. Trans 18-carbon monoenoic fatty acid has distinct effects from its isomeric cis fatty acid on lipotoxicity and gene expression in *Saccharomyces cereviceae*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 123:33-38.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014, Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres.
- Ntambi J.M. 1999. Regulation of Stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *Journal of Lipid Research*. 40(9):1549–1558.
- Pérez, R.R.; Villanueva, R.S.; Cosío, R.R. 2005. El aceite de aguacate y sus propiedades nutricionales. *e-Gnosis (online)*. 3:1-11. consultado en enero del 2016.
- Petróñ T.M.J. 2002. Estudio de la fracción lipídica intramuscular en diferentes tipos de jamón ibérico. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura. España.

- Phillips, A.L.; Faustman, C.; Lynch, M.P.; Govoni, K.E.; Hoagland, T.A.; Zinn, S.A. 2001. Effect of dietary  $\alpha$ -tocopherol supplementation on color and lipid stability in pork. *Meat Science*. 58:389–393.
- Pfaffl, M.W. 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research*. 29(9):e45.
- Ponnampalm, E.N.; Hoplmán, B.N.B.; Scollan, N.D. 2016. Sheep: Meat. In: *The Encyclopedia of Food and Health*. Caballero, P.; Finglas, P.; Toldra, F. Eds. Academic Press. pp. 750-757.
- Poulanne, E.; Demeyer, D.T. 1992. Pork Quality: Genetic and Metabolic Factors. paper present at an OECD workshop in Helsinki, Finland. 8-10.
- Priolo, A.; Vasta, V. 2007. Effects of tannin-containing diets on small ruminant meat quality. *Italian Journal of Animal Science*. 6:527–530.
- RefSeq, consultado en Marzo de 2016 <<http://www.genecards.org>>.
- Rodríguez, C.J.G. 2011. Utilización de subproductos de aguacate para la mejora de las características nutricionales y la estabilidad oxidativa de hamburguesas de cerdo. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura, Cáceres España.
- Rodríguez-Carpena, J.G.; Morcuende, D.; Andrade M.J.; Kylli P.; Estévez, M. 2011. Avocado (*Persea americana Mill.*) Phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59:5625–5635
- Rodríguez-Sánchez, D.G.; Pacheco, A.; García-Cruz, M.I.; Gutiérrez-Urbe, J.A.; Benmavidez-Lozano, J.A.; Hernández-Brenes, C. 2013. Isolation and

structure elucidation of avocado seed (*persea americana*) lipid derivatives that inhibit *Clostridium sporogenes* endospore germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61:7403-7411.

- Salvatori G.L.; Pantaleo, C.D.; Cesare, G.; Maiorano, F.; Filetti, G.; Oriani. 2004. Fatty acid composition and cholesterol content of muscles as related to genotype and vitamin E treatment in crossbred lambs. *Meat Science*. 67:45-55.
- Sancho, J.; Bota, E.; De Castro, J.J. 1999. *Introducción al análisis sensorial de los alimentos*. Ediciones Universitat de Barcelona. Barcelona, España. pp. 26-43.
- Sanhueza, C.J.; Valenzuela, B.A. 2006. Nuclear receptors and regulation of gene expression by polyunsaturated fatty acids: something more than energy production and essentiality. *Revista Chilena de Nutrición*. 33(2):150-161.
- SAS. 2002. *SAS/STAT user's guide, version 9.0*. SAS Institute Incorporated, Cary.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2015. Aguacate Hass. Página consultada el 3 de junio de 2017. Disponible en <http://w4.siap.sagarpa.gob.mx>.
- Shah, M.A.; Bosco, S.J.D.; Mir, S.A. 2014. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Science*. 98:21-33.
- Shahidi, F.; Janitha, P.K.; Wanasundara, P.D. 1992. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 32:67-103.

- Shahidi, F.; Ambigaipalan, P. 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*. 18:820-897.
- Shimano, H. 2001. Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): Transcriptional regulators of lipid synthetic genes. *Progress in Lipid Research*. 40:439-452.
- Shimamoto, C; Ohnishi, T.; Maekawa, M.; Watanabe, A.; Ohba, H.; Arai, R.; Iwayama, Y.; Hisano, Y.; Toyota, T.; Toyoshima, M.; Suzuki, K.; Shirayama, Y.; Nakamura, K.; Mori, N.; Owada, Y.; Kobayashi, T.; Yoshikawa T. 2014. Functional characterization of FABP3, 5 and 7 gene variants identified in schizophrenia and autism spectrum disorder and mouse behavioral studies. *Human Molecular Genetics*. 24(8):2409.
- Shingfield, K.J.; Griinari, J.M. 2007. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 109:799-816.
- Skenjana, A.; Van Ryssen, J.B.J.; Van Niekerk, W.A. 2006. In vitro digestibility and in situ degradability of avocado meal and macadamia waste products in sheep. *South African Journal of Animal Science*. 36(5):78-81.
- Smith, S.; Witkowski, A.; Joshi, A.K. 2003. Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. *Progress in Lipid Research*. 42(4):289-317.
- Soliva, R.C.; Elez, P.; Sebastián, M.; Martín, O. 2011. Evaluation of browning effect on avocado puree preserved by combined methods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 1:261-268.

- Suman, S.P.; Joseph, P. 2013. Myoglobin chemistry and meat color. *Annual Review of Food Science and Technology*. 4:79-99.
- Stone, H.; Sidel, J.L. 1993. *Sensory Evaluation Practices*. 2nd Ed. Academic Press, Inc. San Diego, USA. 338 p.
- Stauffer, C.E. 1996. *Fats and oils*. Eagan Press Handbook Series. St. Paul Minnesota, USA. 149 p.
- Torrico, D.D.; Hutchings, S.C.; Minh, H.; Bittner, E.P.; Fuentes, S.; Warner, R.D.; Dushea, F.R. 2018. Novel techniques to understand consumer responses towards food products: A review with a focus on meat. *Meat Science*. 144:30-42.
- Urrutia, O.; Soret, B.; Insausti, K.; Mendizabal, J.A.; Purroy, A.; Arana, A. 2015. The effects of linseed or chia seed dietary supplementation on adipose tissue development, fatty acid composition, and lipogenic gene expression in lambs. *Small Ruminant Research*. 123(2-3):204-2011.
- Van Ryssen, J.B.J.; Skenjana, A.; Van Niekerk, W.A. 2013. Can avocado replace maize meal in broiler diets?. *Applied Animal Husbandry & Rural Development*. 6:22-27.
- Vahmani, P.; Rolland, D.C.; Gzyl, K. E.; Dugan, M.E. 2016. Non-conjugated cis/trans18:2 in beef fat are mainly  $\Delta$ -9 desaturation products of trans-18:1 isomers. *Lipids*. 51(12):1427-1433.
- Vasta, V.; Priolo, A. 2006. Ruminant fat volatiles as affected by diet. A review. *Meat Science*. 73:218-228.

- Vasta, V.; Ratel, J.; Engel, E. 2007. Mass spectrometry analysis of volatile compounds in raw meat for the authentication of the feeding background of farm animals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55:4630-4639.
- Vasta, V.; D'Alessandro, A.G.; Priolo, A.; Petrotos, K.; Martemucci, G. 2012. Volatile compound profile of ewe's milk and meat of their suckling lambs in relation to pasture vs. indoor feeding system. *Small Ruminant Research*. 105:16-21
- Villa-Rodríguez, J.A.; Molina-Corral, F.J.; Ayala-Zavala, J.F.; Olivas, G.I.; González- Aguilar, G.A. 2011. Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. *Food Research International*. 44:1231-1237.
- Wang, W.; Terrell, R.B.; Liwei, G. 2010. Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*. 122:1193-1198.
- Werman, M.J.; Neeman, I. 1986. Effectiveness of antioxidants in refined, bleached avocado oil. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. 63:352-355.
- Yahia, E.M; Woolf, A.B. 2011. Avocado (*Persea americana* Mill.) Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits. Elsevier Inc., 186e:125-185.
- Yamashita, H.; Wang, Z.; Wang, Y.; Segawa, M.; Kusudo, T.; Kontani Y. 2008. Induction of fatty acid-binding protein 3 in brown adipose tissue correlates with increased demand for adaptive thermogenesis in rodents. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 377:632-635.

- Xiong, Y.L. 2010. Antioxidant peptides. In: Y. Mine, E.C.Y. Li-Chan, & B. Jiang (Eds.), Bioactive proteins and peptides as functional foods and nutraceuticals pp. 29-42.
- Zhong, R.Z; Li, H.Y.; Fang, Y.; Sun, X.H.; Zhou, D.W. 2015. Effects of dietary supplementation with green tea polyphenols on digestion and meat quality in lambs infected with *Haemonchus contortus*. Meat Science.105:1-7.
- Zhu, J.; Luo, J.; Wang, W.; Yu, K.; Wang, H.; Shi, H.; Sun, Y.; Lin, X.; Li, J. 2014. Inhibition of FASN reduces the synthesis of medium-chain fatty acids in goat mammary gland. Animal. 8(9):1469-1478.