

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**  
Departamento de Producción Animal



**TESIS DOCTORAL**

**Antioxidantes naturales en la dieta de cordero para preservar las características físicas, químicas y sensoriales de su carne enriquecida en ácidos grasos omega 3**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Elizabeth del Carmen Apeleo Zubiri**

Directores

**Concepción Pérez Marcos**  
**Jesús de la Fuente Vázquez**  
**M<sup>a</sup> Teresa Díaz Díaz-Chirón**

**Madrid, 2018**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Producción Animal



**ANTIOXIDANTES NATURALES EN LA DIETA  
DE CORDERO PARA PRESERVAR LAS  
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y  
SENSORIALES DE SU CARNE ENRIQUECIDA  
EN ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Elizabeth del Carmen Apeleo Zubiri**

Bajo la dirección de los Doctores:

Concepción Pérez Marcos

Jesús de la Fuente Vázquez

M<sup>a</sup> Teresa Díaz Díaz-Chirón

**Madrid, 2016**



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**

**TESIS DOCTORAL**

**ANTIOXIDANTES NATURALES EN LA DIETA  
DE CORDERO PARA PRESERVAR LAS  
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y  
SENSORIALES DE SU CARNE ENRIQUECIDA  
EN ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3**

**Elizabeth del Carmen Apeleo Zubiri**

**Madrid, noviembre del 2016**



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**

**TESIS DOCTORAL**

**ANTIOXIDANTES NATURALES EN LA DIETA  
DE CORDERO PARA PRESERVAR LAS  
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, QUÍMICAS Y  
SENSORIALES DE SU CARNE ENRIQUECIDA  
EN ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3**

**Memoria presentada por la Licenciada en Veterinaria  
Elizabeth del Carmen Apeleo Zubiri para optar al grado  
de Doctor en Veterinaria**

**Madrid, noviembre del 2016**



**Dra. Concepción Pérez Marcos**, Profesor Titular del Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Veterinaria de Madrid de la Universidad Complutense de Madrid, **Dr. Jesús de la Fuente Vázquez**, Profesor Contratado Doctor del Departamento de Producción Animal de la Universidad Complutense de Madrid, y **M<sup>a</sup> Teresa Díaz Díaz-Chirón**, Científico Titular del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria,

**CERTIFICAN:** Que la presente Memoria de Tesis Doctoral titulada: “Antioxidantes naturales en la dieta de cordero para preservar las características físicas, químicas y sensoriales de su carne enriquecida en ácidos grasos omega 3”, de la que es autora la Licenciada en Veterinaria **Dña. Elizabeth del Carmen Apeleo Zubiri**, ha sido realizada bajo su dirección conjunta, y cumple las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Para que conste, firman la presente en Madrid, noviembre del 2016.

Fdo.: Concepción Pérez

Fdo.: Jesús de la Fuente

Fdo: M<sup>a</sup> Teresa Díaz



## ***AGRADECIMIENTOS***

---



## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica del Gobierno de Chile (CONICYT) y a su programa de capital humano avanzado por la beca de doctorado en el extranjero que me otorgó y por su apoyo durante la realización de esta investigación (CONICYT PAI/INDUSTRIA 79090016).

Hace ya muchos años que decidí emprender un viaje sin saber a qué me enfrentaba. Sólo tenía una meta, que era llegar a Madrid y cursar un máster para después regresar a casa, pero cambiaron los planes y tomé la decisión de continuar. Durante estos años he vivido muchas experiencias enriquecedoras y muchos momentos felices que me han permitido sobrellevar la distancia que me separa de mis padres, hermanos y amigos. Es por eso que haciendo un recorrido en el tiempo se me viene a la cabeza el rostro de Concha, Maite y Jesús, quienes han sido fundamentales en este periodo de mi vida.

A Jesús quien me brindó la gran oportunidad de realizar mi proyecto de fin de máster formando parte de su equipo en el Departamento de Producción Animal de la Universidad Complutense de Madrid, quienes me acogieron y me enseñaron. Jesús desde el primer día me enseñó lo que era trabajar en un laboratorio con una paciencia infinita y gran entusiasmo, siempre dispuesto a buscar soluciones para los percances y con él descubrí lo que significaba ser un investigador. Jesús siempre tenía las palabras apropiadas en el momento preciso para que el ánimo no decayera. A Maite por todas las horas que ha invertido en esta tesis, por sus certeras correcciones, por su gran paciencia y porque siempre me animaba a continuar y no dejaba que me rindiese. A Concha, que siempre estaba dispuesta a colaborar en el trabajo y estaba siempre pendiente de los que allí trabajábamos, aportando alegría y sus gratas conversaciones haciendo del trabajo un ambiente acogedor. Es una de las personas más positivas que he conocido y a todo le encuentra una solución, no se rinde nunca y tampoco deja rendirse al que está a su lado.

Maite, Concha y Jesús han sido el gran pilar para que la tesis llegara a su fin, me han apoyado en todo momento, me han brindado sus consejos, sus enseñanzas y me han dedicado su tiempo cada vez que les he necesitado desde el inicio de este proceso. He sido afortunada de contar con ellos porque me han brindado su confianza, cariño, amistad, alegría y apoyo,

siendo hoy en día parte de mi familia. Por eso y por todos los segundos que compartimos les estoy eternamente agradecida.

Quiero agradecer a Sara, por las extensas jornadas de trabajo que compartimos, donde siempre tomaba las decisiones apropiadas que permitieron que el trabajo se realizara de forma correcta. Así como la confianza, la simpatía y los consejos que me entregó.

Quiero agradecer a todas las personas del Departamento de Producción Animal, de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid y del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria que tuve la oportunidad de conocer durante este proceso, porque siempre me dedicaron palabras de aliento y buenos deseos, palabras que me hicieron sentir acogida y acompañada durante estos años.

Durante la realización de la tesis he conocido a personas que han hecho que las jornadas de trabajo se llevaran a cabo en un entorno grato, alegre y familiar, que me produce una gran alegría de sólo recordarlas. Es por eso que debo mencionar a Ana, Cristina, Iria y Rubén, con quienes compartí momentos durante mucho tiempo y me enseñaron que un buen equipo de trabajo lo forman personas maravillosas como ellos. Quiero agradecer a cada uno de ellos todas las risas compartidas, el café a media mañana, los consejos para sobrevivir en Madrid, la ayuda en las numerosas mudanzas y no puedo olvidar la tradición del cafecito del domingo por la tarde. Gracias por todo eso y mucho más.

Durante mi estancia en Madrid he podido conocer a grandes personas que han formado parte de mi vida y les agradezco absolutamente todo porque han hecho de cada momento un recuerdo imborrable y porque la vida se debe vivir en buena compañía. Quiero agradecer de forma especial a María José por sus consejos y compañía, a Nancy por compartir su aventura con la mía, a Danny por sus alegres conversaciones, a Rocío por su nobleza y cariño, Miguel por la confianza y a Víctor por su nobleza y amistad. Gracias por el camino que recorrimos juntos.

A mi madre, por su amor incondicional y por ser la mejor mujer, madre y esposa. A mi padre, por su esfuerzo y entereza para enfrentar cada desafío, por sus consejos, enseñanzas, alegrías y amor. No hay palabras que logren definir el amor y gratitud que siento hacia ellos. Se han hecho largos los años y no hemos estado juntos en las grandes ocasiones o en los momentos

más difíciles, pero ya queda poco y pronto volveremos a estar juntos. Me siento orgullosa de tenerlos como padre porque nos entregaron, a mí y a mis hermanos, las herramientas necesarias para desarrollarnos, nos enseñaron con su ejemplo que es importante tener perseverancia en los momentos difíciles y que el esfuerzo para lograr los sueños no tiene límites. Para ellos, todo mi agradecimiento por confiar en mí, porque cada uno a su manera han sabido enseñarme el camino para poder crecer, volar y levantarme ante la adversidad. Queridos padres los amo con todo mi corazón.

A mis hermanos, que a pesar de la distancia están siempre presentes en mi vida. Gracias por el apoyo, paciencia y cariño que me entregan. Los amo con todo mi corazón.

A mis amigas, Andrea, Claudia y Rita, gracias por estar presentes siempre y enseñarme que la distancia no importa cuando el cariño es tan grande. Las quiero con todo mi corazón.

Debo agradecer de forma muy especial a Chavita, que ha sido parte importante de esta gran aventura desde que nos vimos por primera vez. Chavita ha sido la mejor compañera de piso y la mejor compañera de trabajo. Su felicidad al verme llegar a casa me llenaba el corazón de alegría y nunca me sentí sola porque siempre estábamos juntas. Ahora mientras redacto la tesis ella me acompaña en silencio. Llenó de amor y felicidad mi vida en España y continuaremos siempre juntas en los próximos destinos. Eres mi gran tesoro Chavita.

A mi esposo Benjamín, gracias por tu amor incondicional, por tu gran apoyo y por creer en mí. Danke für deine Liebe! Ich liebe dich!

Y por último debo agradecer a todas las personas que han formado parte de mi vida en el transcurso de estos años, porque me han ayudado a sobrellevar la distancia y han hecho posible llegar al término de este gran ciclo. A todos, muchas gracias.

*A mis padres*



***ÍNDICE***

---



---

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>2</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>6</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	<b>10</b>
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>14</b>
2.1. SITUACIÓN ACTUAL DEL SECTOR.....	14
2.1.1. Situación mundial.....	14
2.1.2. Situación en España .....	14
2.2. CARACTERÍSTICAS DE LA CARNE DE CORDERO .....	15
2.2.1. Contenido graso.....	17
2.2.2. Características sensoriales .....	19
2.3. MODIFICACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LOS RUMIANTES .....	21
2.4. PROCESOS OXIDATIVOS DE LA CARNE.....	25
2.4.1. Mecanismo de oxidación de la carne .....	26
2.4.2. Oxidación de los lípidos de la carne.....	27
2.4.3. Oxidación de las proteínas de la carne .....	29
2.4.4. Sistemas de defensa biológicos frente a la oxidación .....	32
2.4.4.1. Sistemas enzimáticos.....	33
2.4.4.2. Sistemas no enzimáticos.....	34
2.5. UTILIZACIÓN DE ANTIOXIDANTES EN PRODUCCIÓN ANIMAL.....	35
2.5.1. Clasificación de los antioxidantes .....	38
2.5.2. Vitamina E.....	40
2.5.2.1. Absorción de la vitamina E .....	41
2.5.3. Compuestos fenólicos .....	46
2.5.3.1. Clasificación de los compuestos fenólicos.....	47
2.5.3.2. Acciones biológicas de los compuestos fenólicos.....	50
2.5.3.3. Absorción de los compuestos fenólicos .....	51
2.5.3.4. Aplicación de los compuestos fenólicos .....	52
2.5.3.5. Compuestos fenólicos de la oliva.....	53
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>58</b>
3.1. ANIMALES, DIETAS Y CEBO .....	58

---

3.2. SACRIFICIO Y MEDIDAS SOBRE LA CANAL.....	61
3.3. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE CARNE, ENVASADO Y CONSERVACIÓN....	62
3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS REALIZADOS EN LA CARNE .....	64
3.4.1. Determinación de la grasa .....	64
3.4.2. Determinación de la proteína .....	66
3.4.3. Determinación de las cenizas .....	67
3.4.4. Determinación de la humedad.....	67
3.4.5. Determinación de polifenoles totales .....	68
3.4.6. Determinación de $\alpha$ -tocoferol.....	69
3.4.7. Actividad de las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa .....	70
3.4.8. Determinación del color y de la proporción de metamioglobina .....	71
3.4.9. Determinación del índice de oxidación lipídica (TBARS).....	73
3.4.10. Determinación de los grupos carbonilos y de los grupos tioles .....	74
3.4.11. Determinación de la composición en ácidos grasos .....	75
3.4.12. Análisis sensorial.....	77
3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	79
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>83</b>
4.1. CRECIMIENTO DE LOS ANIMALES Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL .....	83
4.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA .....	85
4.3. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA .....	85
4.4. CONTENIDO EN POLIFENOLES TOTALES (TPC) Y A-TOCOFEROL .....	86
4.5. COLOR Y PROPORCIÓN DE METAMIOGLOBINA.....	87
4.6. OXIDACIÓN LIPÍDICA (TBARS) Y PROTEICA (CARBONILOS Y TIOLES).....	93
4.7. COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS .....	97
4.7.1. Ácidos grasos saturados .....	97
4.7.2. Ácidos grasos monoinsaturados .....	100
4.7.3. Ácidos grasos poliinsaturados.....	102
4.7.4. Relaciones e índices entre los ácidos grasos .....	107
4.8. ANÁLISIS SENSORIAL .....	110
<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>115</b>
5.1. CRECIMIENTO DE LOS ANIMALES Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL .....	115
5.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA .....	117

---

5.3. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA .....	118
5.4. CONTENIDO EN POLIFENOLES TOTALES Y A-TOCOFEROL .....	119
5.5. COLOR Y PROPORCIÓN DE METAMIOGLOBINA.....	122
5.6. OXIDACIÓN LIPÍDICA Y PROTEICA .....	129
5.7. COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS .....	133
5.8. ANÁLISIS SENSORIAL .....	138
<b>6. CONCLUSIONES .....</b>	<b>142</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>144</b>
<b>ANEXO I: ABREVIATURAS.....</b>	<b>187</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 2.1.</b> Composición química media (%) y valores de energía (en 100 g de fracción comestible) de la carne de diferentes especies (Moreiras et al., 2001).....	16
<b>Tabla 3.1.</b> Ingredientes y composición química de la dieta basal.....	59
<b>Tabla 4.1.</b> Medias $\pm$ EE del peso vivo inicial, peso vivo al sacrificio y ganancia media diaria de los corderos en función de la dieta.....	83
<b>Tabla 4.2.</b> Media $\pm$ EE de los parámetros productivos medidos en la canal en función de la dieta.....	84
<b>Tabla 4.3.</b> Media $\pm$ EE de la composición química de la carne (%) en función de la dieta.....	85
<b>Tabla 4.4.</b> Media $\pm$ EE de la actividad de las enzimas catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPX), en función de la dieta.....	86
<b>Tabla 4.5.</b> Media $\pm$ EE de la concentración de polifenoles totales (TPC) en la carne y en el hígado, y de la concentración de $\alpha$ -tocoferol en la carne en función de la dieta.....	87
<b>Tabla 4.6.</b> Media $\pm$ EE de los parámetros de color de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).....	89
<b>Tabla 4.7.</b> Media $\pm$ EE de la proporción de metamioglobina (MetMb) de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).....	91
<b>Tabla 4.8.</b> Media $\pm$ EE del índice de oxidación lipídica (TBARS) de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).....	94
<b>Tabla 4.9.</b> Media $\pm$ EE de la concentración de grupos carbonilos y grupos tioles de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).....	96
<b>Tabla 4.10.</b> Media $\pm$ EE de la proporción de los ácidos grasos saturados de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).....	98
<b>Tabla 4.11.</b> Media $\pm$ EE de la proporción de los ácidos grasos monoinsaturados de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).....	101

<b>Tabla 4.12.</b> Media $\pm$ EE de la proporción de los ácidos grasos poliinsaturados de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).....	104
<b>Tabla 4.13.</b> Media $\pm$ EE de las relaciones entre los ácidos grasos, el índice de aterogenicidad (ATT) y el índice de ácidos grasos deseables (DFA), de la carne de los corderos en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).....	108
<b>Tabla 4.14.</b> Media $\pm$ EE de las características sensoriales I de la carne de los corderos en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).....	112

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2.1.</b> Estructura química del hidroxitirosol.....	54
<b>Figura 3.1.</b> Corderos a la llegada al cebadero durante la adaptación a las instalaciones.....	60
<b>Figura 3.2.</b> Corderos en periodo de cebo.....	61
<b>Figura 3.3.</b> Chuletas del costillar cortadas para su distribución a los distintos tiempos de conservación y tipo de análisis.....	62
<b>Figura 3.4.</b> Esquema de distribución de las chuletas de ambos costillares para los diferente análisis realizados.....	64
<b>Figura 3.5.</b> Patrones con concentraciones decrecientes de ácido gálico.....	69
<b>Figura 3.6.</b> Espectrocolorímetro y medición del color en la superficie de corte.....	72
<b>Figura 3.7.</b> Preparación de muestras para el análisis sensorial.....	79
<b>Figura 4.1.</b> Evolución de la proporción de metamioglobina (MetMb) de la carne en función de la dieta y del periodo de conservación.....	92
<b>Figura 4.2.</b> Evolución del índice de oxidación lipídica (TBARS) de la carne en función de la dieta y del periodo de conservación.....	94



***RESUMEN***

---

## RESUMEN

En el presente estudio, se ha valorado el efecto de la suplementación con un extracto de aceituna rico en polifenoles (hidroxitirozol) y con vitamina E (dl- $\alpha$ -acetato tocoferol) en la dieta de engorde de corderos, cuando está enriquecida en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) omega3 (n3), sobre el crecimiento de los animales, la calidad de la canal y la calidad de la carne durante su conservación.

Para ello se han estudiado 5 dietas: Dieta 1 (GC): dieta basal rica en PUFA n3 (6% lino extrusado y 1% de aceite de pescado); Dieta 2 (G150): dieta basal suplementada con 1.500 ppm del extracto de aceituna rico en polifenoles; Dieta 3 (G300): dieta basal suplementada con 3.000 ppm de extracto de aceituna; Dieta 4 (GVE): dieta basal suplementada con 300 ppm de vitamina E, y Dieta 5 (GMIX): dieta basal suplementada con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm del extracto de aceituna. Los corderos estuvieron consumiendo los piensos experimentales desde un peso vivo inicial de 12,6 kg hasta que alcanzaron un peso de sacrificio de 24,5 kg. Las canales se dividieron en dos medias canales, y los costillares de ambas medias canales se chuletearon en porciones de 2 cm de grosor. Las chuletas de lomo se distribuyeron aleatoriamente a uno de los tres períodos de conservación estudiados: 0, 6 y 12 días. Las chuletas asignadas a los 6 y 12 días de conservación fueron envasadas en atmósfera modificada (MAP) con alta proporción de oxígeno (70/30, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) y conservadas en refrigeración a 4 °C.

La dieta de los corderos afectó a la ganancia media diaria (GMD) ( $p < 0,05$ ), presentando el grupo GMIX mayor GMD en comparación con el grupo G150. En cuanto a los parámetros medidos en la canal y a la composición química de la carne no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los grupos. La dieta no afectó a la actividad de las enzimas catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) ( $p > 0,05$ ), aunque se observó una tendencia ( $p = 0,08$ ) a una mayor actividad de la enzima GPX en el grupo GMIX. La dieta no afectó al contenido de polifenoles totales de la carne fresca ( $p > 0,05$ ) pero sí del hígado ( $p < 0,05$ ), con un mayor contenido en los corderos de los grupos GVE y GMIX. Los corderos suplementados con vitamina E (GVE y GMIX) presentaron una mayor concentración de  $\alpha$ -tocoferol en su carne (5,69 y 4,84 mg  $\alpha$ -tocoferol/kg carne, respectivamente) que los grupos GC, G150 y G300 (2,74, 2,37 y 2,71 mg  $\alpha$ -tocoferol/kg carne, respectivamente).

En relación al color de la carne, se observó que la luminosidad ( $L^*$ ) estuvo afectada por la dieta ( $p < 0,01$ ) y por el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ). El grupo GMIX presentó el menor valor de  $L^*$ , además este parámetro aumentó con el periodo de conservación. Para el índice de rojo ( $a^*$ ) y el tono ( $h^*$ ) la interacción entre la dieta y el periodo de conservación fue significativa ( $p < 0,001$ ). El parámetro  $a^*$  disminuyó y el  $h^*$  aumentó de 6 a 12 días de conservación en los grupos GC y G150, mientras que en los grupos suplementados con vitamina E se mantuvieron estables. Así a día 12 de conservación, los grupos GVE y GMIX tuvieron mayor  $a^*$  y menor  $h^*$  que los grupos GC y G150. La proporción de metamioglobina (MetMb) mostró interacción entre la dieta y el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), observándose que en los grupos GC y G150 la proporción de MetMb aumentó a lo largo de todo el periodo de conservación, mientras que en los grupos G300, GVE y GMIX se mantuvo constante del día 6 al 12 de conservación.

En cuanto a la oxidación lipídica, se ha observado interacción entre la dieta y el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ) en las sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS), que aumentaron durante todo el periodo de conservación en los grupos GC, G150 y G300, mientras que en GVE y GMIX se mantuvieron constantes. Los grupos GVE y GMIX presentaron los valores de TBARS más bajos el día 6 (ambos 0,73 mg malonaldehído (MDA)/kg carne) y el día 12 de conservación (1,30 y 1,43 mg MDA/kg carne respectivamente).

Se observó interacción significativa entre la dieta y el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ) en los grupos carbonilos. En los grupos GC, G150 y G300 la concentración de grupos carbonilos, aumentó de los 6 a los 12 días de conservación, mientras que en los grupos suplementados con vitamina E se mantuvo constante. A día 12 de conservación, los grupos GMIX y GVE presentaron los valores más bajos.

Las carnes, de este estudio, presentaron alto contenido en PUFA n3, a causa de la dieta empleada (lino y aceite de pescado). La proporción de PUFA estuvo afectada por la dieta ( $p < 0,001$ ) y el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), siendo el grupo GMIX el que presentó la proporción más alta con un 18,3%, y los grupos GC, G150 y G300 las más bajas con 12,6%, 11,1% y 12,6% respectivamente.

Sobre la proporción de PUFA n3, C22:5n3 y C22:6n3, se observó interacción entre dieta y periodo de conservación ( $p < 0,05$ ), disminuyendo a lo largo de la conservación en los grupos

GC, G150 y G300 y manteniéndose constante en los grupos GVE y GMIX. Así el día 12 el grupo GMIX presentó mayor proporción de PUFA n3 (4,85%) y de C22:6n3 (1,74%) que los grupos GC (2,66 y 0,92% respectivamente), G150 (2,00 y 0,64% respectivamente) y G300 (2,43 y 0,78% respectivamente), con proporciones intermedias de estos ácidos grasos en el grupo GVE (3,71 y 1,40% respectivamente).

En relación a las características sensoriales de la carne, en la valoración del olor y flavor a cordero se observó una interacción entre la dieta y el periodo de conservación ( $p < 0,01$ ). Tanto el olor como el flavor a cordero disminuyeron en los grupos GC, G150 y G300 durante la conservación, manteniéndose constantes en los grupos GVE y GMIX. En ambos parámetros, a día 6 de conservación, el grupo GVE presentó las puntuaciones más altas comparadas con los grupos GC, G150 y G300, mientras que el GMIX presentó puntuaciones intermedias. También se observó interacción entre dieta y periodo de conservación ( $p < 0,001$ ) en el olor y flavor extraño, que aumentaron en los grupos GC, G150 y G300 durante la conservación, por lo que a día 6 de conservación estos grupos fueron los de mayores puntuaciones. La apreciación global disminuyó en los grupos GC, G150 y G300 con la conservación, manteniéndose constante en los grupos suplementados con vitamina E, de manera que el día 6 los grupos GVE y GMIX presentaron mayores puntuaciones (5,05 y 4,75 respectivamente) que el resto de grupos (2,61, 2,85 y 3,13 para los grupos GC, G150 y G300 respectivamente).

Los resultados obtenidos en este estudio nos señalan que el extracto de aceituna aportado en la dieta de los corderos, cuando está enriquecida en PUFA n3, no parece ser eficaz protegiendo la carne de la oxidación lipídica, aunque presentó una ligera tendencia a protegerla de la decoloración. En todo caso, su efectividad fue menor que la observada con la vitamina E. La suplementación de la dieta de corderos con vitamina E resultó ser más eficaz, para proteger la carne de los procesos oxidativos tanto en las grasas como en las proteínas, y para retardar la decoloración de la carne, cuando presenta una elevada proporción de PUFA n3. Si bien la incorporación de ambos antioxidantes a la dieta permitió una mayor GMD en los corderos, y una mayor deposición de PUFA y PUFA n3 en el músculo.

***SUMMARY***

---

## SUMMARY

In the present study, the effect of dietary supplementation with an olive extract rich in polyphenols (hydroxytyrosol) and with vitamin E (acetate dl- $\alpha$ -tocopherol) in the diet of lambs, when it was enriched with omega3 (n3) polyunsaturated fatty acids (PUFA), on the growth of the animals as well as the carcass and meat quality during storage were evaluated.

This has been studied in five different diets: Diet 1 (GC): basal diet rich in n3 PUFA (6% extruded linseed and 1% deodorised fish oil); Diet 2 (G150): basal diet supplemented with 1,500 ppm of olive extract rich in polyphenols; Diet 3 (G300): basal diet supplemented with 3,000 ppm of olive extract; Diet 4 (GVE): basal diet supplemented with 300 ppm of vitamin E, and Diet 5 (GMIX): basal diet supplemented with 300 ppm of vitamin E and 1,500 ppm of olive extract. The lambs fed the experimental diets from an initial live weight of 12.6 kg until they reached a slaughter weight of 24.5 kg. The carcasses were divided into two half-carcasses and the ribs of the two half-carcasses were chopped into slices of 2 cm thickness. The loin chops were randomly distributed to one of the three storage periods: 0, 6 and 12 days. The chops, which were assigned to 6 and 12 days of storage, were packed in modified atmosphere packs (MAP) with a high proportion of oxygen (70/30, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) and kept refrigerated at 4 °C.

The diet of the lambs affected the average daily gain (GMD) ( $p < 0.05$ ), having the GMIX group a higher GMD compared to G150. No significant differences ( $p > 0.05$ ) were found between the groups regarding the carcass quality and the chemical composition of the meat. The diet did not affect the activity of the catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) enzymes ( $p > 0.05$ ), although a trend ( $p = 0.08$ ) was observed to increased activity of the GPX enzyme in the GMIX group. The diet affected the total polyphenol content of the liver ( $p < 0.05$ ), with a higher content in the meat from the GVE and GMIX lambs. The lambs supplemented with vitamin E (GVE and GMIX) had a higher concentration of  $\alpha$ -tocopherol (5.69 and 4.84 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg meat, respectively) than GC, G150 and G300 groups (2.74, 2.37 and 2.71 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg meat, respectively).

Regarding the color of the meat, the lightness ( $L^*$ ) was affected by the diet ( $p < 0.01$ ) and the storage period ( $p < 0.001$ ). The GMIX group had the lowest value of  $L^*$ , furthermore this parameter increased with the storage period. The interaction diet x storage period was significant ( $p < 0.001$ ) for redness ( $a^*$ ) and hue angle ( $h^*$ ). The parameter  $a^*$  decreased and  $h^*$

increased from 6 to 12 days of storage in GC and G150 groups, while in the vitamin E supplemented groups remained stable. So, on day 12 of storage, GVE and GMIX groups had higher  $a^*$  and lower  $h^*$  than GC and G150 groups. The proportion of metmyoglobin (MetMb) showed an interaction diet x storage period ( $p < 0.001$ ), in such a way that MetMb proportion increased throughout the storage period in GC and G150 groups, whereas in G300, GVE and GMIX groups it remained constant from 6 to 12 days of storage.

Concerning the lipid oxidation, an interaction diet x storage period ( $p < 0.001$ ) was observed for the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), which increased throughout the storage period in GC, G150 and G300 groups, while in GVE and GMIX groups it remained constant. GVE and GMIX groups showed the lowest TBARS values at day 6 (both 0.73 mg malonaldehyde (MDA)/kg meat) and at day 12 (1.30 and 1.43 mg MDA/kg meat, respectively) of storage.

A significant interaction diet x storage period ( $p < 0.001$ ) was observed for the carbonyl groups. In GC, G150 and G300 groups, the concentration of carbonyl groups increased from 6 to 12 days of storage, while in the vitamin E supplemented groups it remained constant. On day 12 of storage, GMIX and GVE groups exhibited the lowest values.

The meat of this study showed a high n3 PUFA content due to the diet used (6% extruded linseed and 1% deodorised fish oil). The PUFA proportion was affected by the diet ( $p < 0.001$ ) and the storage period ( $p < 0.001$ ), where the GMIX group had the highest proportion with 18.3%, while GC, G150 and G300 groups had the lowest with 12.6%, 11.1% and 12.6%, respectively.

An interaction diet x storage period ( $p < 0.05$ ) was observed for n3 PUFA, C22:5n3 and C22:6n3. So, in GC, G150 and G300 groups the proportion of these fatty acids decreased during storage, while in GVE and GMIX groups it stayed stable. On day 12 of storage, the GMIX group had a higher proportion of n3 PUFA (4.85%) and C22:6n3 (1.74%) than GC (2.66 and 0.92%, respectively), G150 (2.00 and 0.64%, respectively) and G300 (2.43 and 0.78%, respectively) groups, while GVE group exhibited intermediate proportions of these fatty acids (3.71 and 1.40%, respectively).

Regarding the sensory properties of the meat, an interaction diet x storage period ( $p < 0.01$ ) was observed for the lamb odour and flavour. Both the lamb odour and flavour decreased

during storage in GC, G150 and G300 groups, but they remained constant in GVE and GMIX groups. On day 6 of storage, GVE group had higher scores of lamb odour and flavour compared to GC, G150 and G300 groups, while GMIX group exhibited intermediate scores. An interaction diet x storage period ( $p < 0.001$ ) was also observed for the odd odour and flavour, which increased during storage in GC, G150 and G300 groups, and on day 6 of storage, these groups were those with the highest scores. The overall liking decreased in GC, G150 and G300 groups during storage, but remained constant in the groups supplemented with vitamin E, so that on day 6 of storage, GVE and GMIX groups had the highest scores (5.05 and 4.75, respectively) compared to the other groups (2.61, 2.85 and 3.13 for GC, G150 and G300 groups, respectively).

The results obtained in this study showed that the supplementation with an olive extract of the lamb diet, enriched with n3 PUFA, does not appear to be effective in protecting the meat against lipid oxidation, although it showed a slight tendency to protect against discoloration of the meat. In any case, its effectiveness was lower than the one observed for vitamin E. The supplementation of the lamb diet with vitamin E was more effective to protect the meat against both lipid and protein oxidation processes, and to retard the discoloration of the meat having a high proportion of n3 PUFA. However, the incorporation of both antioxidants into the diet allowed a greater GMD of the lambs and an increased deposition of PUFA and PUFA n3 in their muscles.

## ***INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS***

---

## 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La carne se considera un alimento con un gran valor nutritivo por su contenido en proteínas de alto valor biológico y micronutrientes como vitaminas, hierro, zinc y selenio (Moran et al., 2013), siendo un componente básico en la alimentación de gran parte de los países desarrollados. No obstante, la carne contiene cantidades elevadas de grasa, principalmente saturada, por lo que su consumo se considera contribuye al desarrollo de determinadas enfermedades. Los ácidos grasos saturados (SFA) contribuyen a aumentar el colesterol total y las lipoproteínas de baja densidad (LDL), incrementando el riesgo de problemas cardiovasculares, y otras patologías como la obesidad y el cáncer (EFSA, 2010a; Simopoulos, 2008). En el caso de los rumiantes, los microorganismos del rumen hidrogenan gran parte de los ácidos grasos insaturados de la dieta, dando como resultado carne con altos niveles de SFA (Sinclair et al., 2005).

Por otra parte, las investigaciones realizadas los últimos años han puesto de manifiesto la importancia biológica de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) omega-3 (PUFA n3), en especial de los ácidos linolénico (ALA, C18:3n3), eicosapentaenoico (EPA, C20:5n3) y docosahexaenoico (DHA, C22:6n3) para la salud humana. Los PUFA n3 son fundamentales para ciertos tejidos, como el cerebro y la retina, representando el DHA el 40% de los PUFA en los fosfolípidos de las membranas del cerebro (Simopoulos, 2011). Sin olvidar los beneficios de los PUFA n3 sobre el cáncer, la enfermedad inflamatoria intestinal, la artritis reumatoide y la psoriasis (Simopoulos, 2008).

Por estas razones, se han desarrollado estrategias para mejorar la calidad nutricional de la carne, en especial, la de rumiantes, reduciendo la concentración de SFA e incrementando la de PUFA, y en particular los PUFA n3. Una estrategia que ha resultado efectiva ha sido la suplementación de la dieta de rumiantes con fuentes ricas en PUFA (Scollan et al., 2006; Díaz et al., 2011). Entre otras, se han utilizado el lino, que aporta principalmente C18:3n3 (Bas et al., 2007; Díaz et al., 2011), y el aceite de pescado para incrementar los PUFA n3 de cadena larga (Ponnampalam et al., 2001; Díaz et al., 2011). Sin embargo, un aumento en el grado de insaturación de los lípidos acelera los procesos oxidativos que conducen a la pérdida de calidad y a la reducción de la vida útil de la carne.

Los procesos oxidativos conducen a pérdidas de color, sabor y valor nutritivo, y son la principal causa no microbiana de deterioro de la calidad de la carne (Descalzo et al., 2005;

Martinaud et al., 1997). El proceso de oxidación de los lípidos de la carne se produce inmediatamente después del sacrificio del animal, e implica la degradación de los ácidos grasos insaturados, principalmente PUFA, y la generación de radicales libres, lo que lleva al deterioro de proteínas, a la oxidación de pigmentos hemínicos, y a la producción de olores y sabores desagradables (Estévez y Cava, 2006). Además, se ha descrito que la acumulación de los productos secundarios de la oxidación lipídica puede inducir efectos biológicos adversos como citotoxicidad, mutagénesis, y carcinogénesis (Guardiola et al., 1996).

Para limitar los procesos oxidativos y conservar la calidad de la carne enriquecida con PUFA es importante la utilización de antioxidantes (Díaz et al., 2011). Los antioxidantes retrasan los procesos de oxidación bloqueando, en algunos casos, los agentes pro-oxidantes o reduciendo la formación de radicales libres. El papel de la vitamina E en el retraso de la oxidación de lípidos y la mejora de la estabilidad del color durante la conservación de la carne está ampliamente reconocido (Liu et al., 1995; Morrissey et al., 1998). La utilización de la vitamina E en la cría de los animales condiciona la calidad de la carne, ya que al ser incorporada en la dieta proporciona mayor estabilidad oxidativa durante la conservación de la misma (Lauzurica et al., 2005; Ripoll et al., 2011; Ponnampalam et al., 2012).

Los antioxidantes de origen natural, son percibidos por los consumidores como seguros y saludables (Fasseas et al., 2007; Li et al., 2010), por lo que los últimos años está aumentando su utilización. Existe un grupo de compuestos naturales procedentes de las plantas, denominados polifenoles con propiedades antioxidantes, que pueden ser utilizados para prevenir la oxidación de los alimentos (Vasta y Luciano, 2011). En la última década, las investigaciones sobre los polifenoles como antioxidantes naturales y su papel en la estabilidad oxidativa de la carne y sus productos han aumentado considerablemente y varios estudios señalan su efecto positivo retrasando los procesos oxidativos en la carne (Luciano et al., 2009; Nieto et al., 2010a; Shah et al., 2014). El hidroxitirosol es un compuesto polifenólico presente en las hojas y el fruto del olivo, que se ha convertido en objeto de numerosas investigaciones, por su alto poder antioxidante, desempeñando un papel importante en la protección de las células frente a los compuestos reactivos del oxígeno (Granados-Principal et al., 2010; Driss y El-Benna, 2010). Los residuos de la producción de aceite de oliva también son una buena fuente de hidroxitirosol, por lo que la extracción de sus compuestos fenólicos y la posterior utilización de los mismos en la industria cárnica pueden servir para revalorizar estos subproductos (Torrecilla, 2010), creando una cadena de producción de aceite de oliva más

sostenible con el medio ambiente. Sin embargo, el empleo de los subproductos de la producción de aceite de oliva como antioxidantes naturales y su efecto potencial sobre la carne y los productos cárnicos requieren aún de más investigaciones. Existen algunos estudios recientes (Muño et al., 2016) que han evaluado el efecto de la adición de extractos ricos en polifenoles, procedentes de subproductos de la industria del aceite de oliva, en hamburguesas de cordero enriquecidas con PUFA n3, con resultados positivos retrasando la oxidación de lípidos y la decoloración de la carne, pero el efecto de estos extractos cuando son suplementados en la dieta de los animales está aún por determinar.

Por ello, el objetivo general de esta tesis ha sido estudiar la incorporación de antioxidantes, extracto de aceituna rico en polifenoles (hidroxitirosol) y vitamina E, en la dieta de corderos para preservar la calidad de su carne durante la conservación cuando está enriquecida en ácidos grasos omega-3.

Para llevar a cabo el objetivo general se han planteado los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar el efecto de la suplementación con extracto de aceituna en la dieta de corderos rica en PUFA n3, sobre las características productivas y la calidad de la canal y de la carne.
- Determinar la dosis más efectiva de extracto de aceituna rico en polifenoles suplementado en la dieta de cordero para prolongar la vida útil de su carne enriquecida en ácidos grasos omega-3 y conservada en refrigeración en atmósfera modificada.
- Estudiar el efecto sinérgico del extracto de aceituna rico en polifenoles y la vitamina E aportados en la dieta de los corderos para prolongar la vida útil de su carne enriquecida en ácidos grasos omega-3 y conservada en refrigeración en atmósfera modificada.

## ***REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA***

---

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. SITUACIÓN ACTUAL DEL SECTOR

#### 2.1.1. Situación mundial

En el año 2013, a nivel mundial, el ganado ovino contaba con 1.162 millones de cabezas, destacando China con unos 150 millones de cabezas, Australia con aproximadamente 101 millones de cabezas, y la India con unos 70 millones de cabezas, teniendo la Unión Europea unos 98 millones de cabezas (FAOSTAT, 2014). Según la FAOSTAT (2014) la evolución censal ovina para el periodo 2000-2013, había sufrido un incremento del 10%, gracias a Asia (con un aumento de 98 millones de cabezas aproximadamente) y a África (con un aumento aproximado de 82 millones de cabezas). Sin embargo, en el mismo periodo se produjo un descenso en Oceanía (con una disminución aproximada de 55 millones de cabezas) y en Europa (con un descenso de 17 millones de cabezas aproximadamente), manteniéndose prácticamente constante en América. Paralelo al censo, el consumo se ha incrementado, en el periodo 2000 - 2011, en Asia en unos 1,7 millones de toneladas de carne ovina y caprina y en África en unos 0,7 millones de toneladas, mientras que ha disminuido en Europa en unos 0,3 millones de toneladas aproximadamente, y en Oceanía con un descenso de unos 0,1 millones de toneladas de carne ovina y caprina (FAOSTAT, 2014).

#### 2.1.2. Situación en España

El sector ovino en España supone el 2,0% de la Producción Final Agraria, y el 5,2% de la Producción Final Ganadera (MAGRAMA, 2014). En 2014, el ganado ovino en España alcanzó el 18% del total de la UE-28 y fue superado únicamente por Reino Unido con el 27%. La cabaña ovina española cuenta con aproximadamente 16.400.000 cabezas de ganado (MAGRAMA, 2014).

Respecto al censo por comunidades autónomas, hay cinco regiones que concentran prácticamente el 78,7% del censo nacional: Extremadura (3.390.021 cabezas), Castilla y León (3.060.225 cabezas), Castilla-La Mancha (2.494.566 cabezas), Andalucía (2.137.333 cabezas) y Aragón (1.802.925 cabezas) (MAGRAMA, 2014). El consumo doméstico de carne en general ha disminuido, retrocediendo significativamente un 2,2% en el año 2015 en

comparación con el año 2014. En el caso de la carne de ovino y caprino en particular, esta disminución ha sido de un 5,1%, según los informes del consumo de alimentación en España 2014 y 2015 (MAGRAMA, 2015; MAGRAMA, 2016). En el año 2015 el consumo medio por persona y año de carne de ovino y caprino fue de 2,14 kg de carne fresca/persona y año (MAGRAMA, 2016). Las comunidades en las que el consumo de carne de ovino y caprino fue mayor son: Aragón, La Rioja y las dos Castillas; mientras que las de menor consumo fueron: Canarias, Andalucía y Extremadura (MAGRAMA, 2015; MAGRAMA, 2016).

Si bien la carne de cordero está considerada como un producto tradicional y de gran arraigo social, las razones del descenso en su consumo son variadas. Por una parte, el precio, que suele ser más alto que el de otras carnes, y por otra su sabor, considerado “fuerte” por los consumidores (Buxadé, 2009), por lo que habitualmente no se incluye en la cesta de la compra, estando ligada especialmente a fiestas y celebraciones. Además, el creciente interés de los consumidores por la relación entre dieta y salud y entre el consumo de carne y el colesterol y las enfermedades cardiovasculares, hacen que la carne en general y especialmente la de cordero pueden tener una imagen negativa por su alto contenido en ácidos grasos saturados (Micha y Mozaffarian, 2010).

## 2.2. CARACTERÍSTICAS DE LA CARNE DE CORDERO

La carne se considera un alimento de gran valor nutricional, que proporciona gran cantidad de energía y nutrientes esenciales. Centrándonos en la carne de cordero, tan solo 28 g pueden proporcionar a un adulto el 10% de sus requerimientos diarios energéticos y proteicos (Díaz et al., 2005a). Los valores medios de la composición bruta y el contenido energético de la fracción comestible de la carne fresca de cordero son: 18% de proteína, y 17% de grasa, con una energía de 225 Kcal/100g (Tabla 2.1). No obstante si eliminamos parte de la grasa visible, la proporción de grasa puede ser mucho más baja. La carne comercial no posee prácticamente carbohidratos (menos del 1%), ni tampoco contiene fibra (Price y Schweigert, 1994).

**Tabla 2.1.** Composición química media (%) y valores de energía (en 100 g de fracción comestible) de la carne de diferentes especies (Moreiras et al., 2001).

Carne magra	Agua (%)	Proteína (%)	Grasas (%)	Cenizas (%)	Kcal/100g
Vacuno	73,9	20,7	5,4	1,2	131
Cerdo	71,7	20	8,3	1	155
Cordero	65	18	17	1,5	225
Pollo	75,4	21,8	2,8	1	112

La carne de los mamíferos inmediatamente después del sacrificio contiene, por término medio, un 75% de agua (Lawrie, 1998), porcentaje que varía con la especie de procedencia, el contenido en grasa y el músculo que se considere.

Durante el enfriamiento de las canales, parte del agua de la carne se pierde bien por evaporación (las canales de bovino pierden hasta un 2% de su peso y las de corderos lechales hasta el 5%) (Marsh y Thompson, 1958; Moreno, 2006), o por goteo, como consecuencia de seccionar los tejidos. Sin embargo, las pérdidas mayores de agua, se producen al cocinar la carne, pudiendo superar el 40% de su peso (Offer y Knight, 1988).

Según describe Hamm (1963), el 70% del agua constitutiva de la carne fresca se encuentra localizada en las miofibrillas musculares, el 20% en el sarcoplasma y el resto en el tejido conjuntivo. El grado de unión del agua depende de su localización, la solubilidad proteica y esta a su vez del estado de las proteínas y también del pH muscular (Sayre y Briskey, 1963).

Para Forrest et al. (1979), parte de las moléculas de agua (4-5%) se encuentran asociadas a los grupos polares de las proteínas miofibrilares y se conocen como "agua ligada", que se mantiene fuertemente unida a las proteínas, incluso cuando se apliquen fuerzas externas sobre el músculo, solo tratamientos muy severos, como la deshidratación a altas temperaturas afectaría al agua ligada. Cuanto mayor es la distancia a los grupos reactivos de las proteínas, las moléculas de agua están unidas por fuerzas menos intensas, denominándose "agua inmovilizada" y la cantidad que puede desprenderse, dependerá de la fuerza externa que se aplique sobre el músculo. El agua que se mantiene unida a la estructura del músculo únicamente por fuerzas superficiales se denomina "agua libre" y se libera fácilmente al aplicar una fuerza externa.

El contenido proteico de la carne y productos cárnicos es muy superior al de la mayoría de los alimentos de origen vegetal, si no han sido manipulados con este fin (Bodwell et al., 1981). En general, la proteína de la carne y los productos cárnicos tiene una digestibilidad del 95-100%, mientras que la correspondiente de los alimentos vegetales es del 65-75% (Hopkins, 1981). La mayoría de los aminoácidos de la carne son resistentes a los efectos del cocinado, sin embargo, si se produce su escaldado y más si está troceada, pueden producirse pérdidas de lisina, metionina y triptófano (Bodwell y Anderson, 1986).

Es importante, también su contenido en vitaminas, minerales y lípidos. Entre las vitaminas se encuentran las del grupo B, destacando la B12, exclusivamente animal, cuya falta puede provocar graves trastornos metabólicos en el ser humano. En cuanto al contenido en minerales, la carne destaca como fuente de hierro, con una disponibilidad mayor que la encontrada en otros alimentos como cereales y leguminosas. El hierro hemo de la carne presenta una excelente absorción e incrementa la absorción del hierro procedente de otras fuentes alimenticias (Godber, 1994). Además contiene un elevado contenido en otros minerales como potasio, fosfatos y zinc (Díaz et al., 2005a).

#### 2.2.1. Contenido graso

En cuanto a los lípidos, la carne de cordero tiene alto contenido en ácidos grasos saturados (Díaz et al., 2005a). Más del 40% de los ácidos grasos de la carne de cordero son saturados (Bravo-Lamas et al, 2015). Sin embargo, la imagen negativa de estos ácidos grasos ha ido cambiando, ya que se ha podido comprobar que algunos ácidos grasos saturados característicos de los productos de los rumiantes, no presentan riesgo de enfermedad y son potencialmente beneficiosos para la salud humana (Smith, 1991). Así, al ácido butanoico (C4:0) se le atribuyen efectos anticancerígenos como inhibidores del crecimiento y diferenciación de células tumorales prostáticas, mamarias y del colon y efectos saludables cardiovasculares y hepáticos (López-Miranda et al., 2010); mientras que los ácidos hexanoico (C6:0), octanoico (C8:0) y decanoico (C10:0) muestran propiedades antivirales y antimicrobianas (German y Dillard, 2006).

El ácido esteárico (C18:0) no afectaría a los niveles de colesterol en sangre puesto que se convierte en ácido oleico (C18:1) por acción de la enzima 9-desaturasa (Bonanone y Grundy,

1987), contribuyendo incluso a la disminución del contenido de lipoproteínas de baja densidad (LDL) causantes de enfermedades cardiovasculares (Smith, 1993).

La carne de cordero presenta otros ácidos grasos, con propiedades bioactivas, como son los monoinsaturados (MUFA) y dentro de ellos el ácido oleico (C18:1 *cis* 9) y el ácido vaccénico (C18:1 *trans* 11). En este sentido, en un estudio realizado con el fin de caracterizar la carne de cordero comercializada en Navarra y País Vasco, observaron que entre el 43-44% de ácidos grasos de la grasa subcutánea de la carne de cordero eran MUFA (Bravo-Lamas et al., 2015).

Los PUFA en general y los PUFA n3 en particular, como los ácidos linolénico (ALA, C18:3n3), eicosapentaenoico (EPA, C20:5n3) y docosahexaenoico (DHA, C22:6n3), son esenciales en la nutrición humana (Kouba y Mourot, 2011), existiendo un reconocimiento cada vez mayor de los beneficios que tiene su consumo para la salud.

Los ácidos grasos poliinsaturados son componentes de las membranas celulares (Raes et al., 2004). Ante situaciones de estrés, las membranas de las células sanguíneas liberan estos ácidos grasos altamente insaturados, que rápidamente se oxidan formando unos mediadores celulares llamados eicosanoides. Los eicosanoides formados a partir de los ácidos grasos n6, incrementan la grasa corporal, inducen a la formación de coágulos y al estrechamiento de los vasos sanguíneos (Tricon et al., 2004), mientras que los eicosanoides formados de los ácidos grasos n3, son generalmente cardioprotectores, por reducir la concentración de lípidos en sangre, prevenir la formación de coágulos, y evitar el estrechamiento de arterias y venas (Calder, 2001). Los ácidos grasos n6 y n3 compiten por las mismas enzimas, por lo que el balance entre estos dos grupos es de vital importancia para la salud humana (Simopoulos, 1999).

Los efectos beneficiosos de los PUFA n3 están asociados por un lado a sus propiedades antiinflamatorias (Kremer et al., 1990), ya que intervienen en la regulación de las enfermedades inflamatorias crónicas, y por otro lado, juegan un papel en la disminución de los triglicéridos en sangre, la muerte cardiovascular súbita, la artritis y el control de las arritmias cardíacas (Appleton et al., 2010; Larsen et al., 2011). Además, distintos estudios han demostrado que los PUFA n3 pueden retrasar la aparición de distintos tumores e inhibir la tasa de crecimiento de los mismos (Kim et al., 2009), previniendo así ciertos tipos de cáncer (Williams, 2000).

El DHA predomina en el cerebro y en la retina (Bazan, 1992), siendo también importante en la composición de los músculos y el semen. Estudios epidemiológicos y preclínicos sugieren que el DHA puede proteger contra la demencia, el Alzheimer y la degeneración macular (Schaefer et al., 2006; Cole y Frautschy, 2010).

La ingesta recomendada por persona y día de ácidos grasos poliinsaturados sería de 2 a 3 g de ALA y 250 mg de PUFA n3 de cadena larga (EPA+DHA) (EFSA, 2010b) y de 10 g de ácidos grasos n6 (EFSA, 2009). Si se calcula la relación entre los 10 g de los PUFA n6 y la suma de los 2 g de ALA, más 0,25 g de DHA y EPA, el resultado es de 4,4, considerándose adecuada relación n6/n3 por debajo de 5. En muchos estudios se ha encontrado una reducción del 70% de la mortalidad por enfermedades cardiovasculares cuando esa relación era de 4/1 y una reducción de células de cáncer de recto cuando la relación bajó a 2,5/1 (Simopoulos, 2008).

Los sistemas utilizados para incrementar los ácidos grasos n3 en la dieta humana han sido la suplementación externa, mediante consumo de cápsulas que los contenían, o el enriquecimiento de los alimentos con ellos. Actualmente hay un gran auge de alimentos enriquecidos en ácidos grasos n3, destacando productos avícolas, lácteos, de panadería y últimamente cárnicos.

### 2.2.2. Características sensoriales

La calidad de la carne se ha relacionado en gran medida con su contenido en grasa, ya que afecta tanto al flavor como a la jugosidad y a la ternura. La grasa parece ser la responsable del desarrollo del flavor de la carne característico en cada especie animal (Goutenfoega y Valin, 1976). Chang et al. (1980) y Brennan et al. (1989) encontraron una clara relación entre la cantidad de los lípidos de la carne y la intensidad de su flavor.

La carne de cada especie tiene un flavor característico, los precursores de ese flavor, carbohidratos y aminoácidos, se encuentran en pequeñas cantidades en el tejido muscular, siendo transportados a la grasa intramuscular próxima, donde se acumulan, contribuyendo al flavor de la carne (Wasserman y Spinelli, 1972).

Los lípidos del músculo, influyen en gran medida en la formación de sabores desagradables o “Warmed-over Flavor” o “WOF” (Pearson, 1977). La pérdida de calidad sensorial de los

productos cárnicos está relacionada fundamentalmente con los procesos de oxidación lipídica como señala Greene (1969).

La carne cocinada de cordero tiene un flavor muy característico y, si es muy intenso, supone motivo de rechazo por parte del consumidor en la península ibérica y países de su entorno. El flavor es la sensación producida por la impresión simultánea del gusto, olfato y tacto al masticar un alimento. Refiriéndonos al olfato, los responsables del aroma de la carne de cordero son los compuestos volátiles (alcanos, aldehídos, cetonas, alcoholes y lactonas) derivados de la oxidación de ácidos grasos insaturados (Caporaso et al., 1977), así como cadenas ramificadas e insaturadas de ácidos grasos de 8 a 10 átomos de carbono (ácido 4 metiloctanoico y ácido 4 metilnonanoico) (Bailey et al., 1982).

La contribución de los compuestos citados anteriormente al flavor de la carne dependerá de la concentración a la que se encuentren y de su umbral de percepción. Los volátiles tipo aldehído y lactona son los más implicados en la aparición de olores rancios, típicos de carnes envejecidas, que causan rechazo en el consumidor (Frankel, 1991). Los aldehídos tienen unos umbrales de detección muy bajos, siendo detectables a concentraciones muy bajas, 1 µg/kg (Gray y Crackel, 1992), por lo que las alteraciones en el flavor se hacen evidentes tras pocos días de almacenamiento en refrigeración.

La aparición de olores y sabores desagradables, justo después del cocinado y durante el almacenamiento posterior, constituye uno de los principales problemas en el procesado y comercialización de los productos elaborados a partir de carne de vacuno (Murphy et al., 1998). Además de los procesos oxidativos, existen otros procesos, tales como la degradación proteica y la pérdida de compuestos heteroatómicos, relacionados con el aroma a recién cocinado implicados en el establecimiento del WOF (St. Angelo et al., 1990).

La aparición de todos estos compuestos derivados de la oxidación lipídica de los ácidos grasos insaturados, causan el deterioro de la carne y el desarrollo de sabores extraños. Según la terminología inglesa, existen dos tipos de desviaciones: “off flavors” y “taints”. “Off flavors” es el término utilizado para describir una alteración en la sensación olfato-gustativa, generalmente asociada al deterioro o transformación de la muestra, siendo esta alteración propia del producto, mientras que el “taints”, hace referencia a una sensación olfato-gustativa ajena al producto en cuestión, producida por causas externas (Murphy et al., 1998).

Los lípidos de la carne influyen también en el color, puesto que el metabolismo más aeróbico de los músculos rojos u “oscuros” comparado con los músculos blancos o “luminosos” se asocia no sólo con mayores concentraciones de mioglobina, sino también con mayor contenido lipídico (Allen y Foegeding, 1981).

Estos atributos sensoriales, influyen en la decisión del consumidor en el momento de elegir un producto de acuerdo a la sensación que experimenta al verlo o al consumirlo, evaluando de esta forma la calidad sensorial de la carne.

### 2.3. MODIFICACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LOS RUMIANTES

Como se ha comentado anteriormente, la composición en ácidos grasos de la carne de rumiantes, vacuno y ovino, se caracteriza por presentar una elevada proporción en SFA, ya que, en estos animales, gran parte de los ácidos grasos insaturados de su dieta son metabolizados y biohidrogenados en el rumen. En los rumiantes, los ácidos C18:2n6 y C18:3n3 ingeridos en la dieta, se degradan en ácidos grasos MUFA y SFA en el rumen por biohidrogenación microbiana (70-95% y 85-100%, respectivamente) y solo un 10% de los consumidos en la dieta, se incorporan a los tejidos (Nieto y Ros, 2012). Por esta razón, la carne de vacuno y de cordero contiene un menor contenido de PUFA en comparación con la de monogástricos. La saturación de la carne de los rumiantes, hace que la relación entre PUFA y SFA sea aproximadamente de 0,11 en vacuno y de 0,15 en ovino (McAfee et al., 2010), muy por debajo del valor recomendado de 0,4 (Department of Health, 1994).

Por ello, existe un gran interés en la manipulación del perfil de ácidos grasos de la carne de rumiante, con el fin de reducir los SFA y aumentar los PUFA, especialmente los PUFA n3, mejorando así las características nutritivas de la misma, con el beneficio que para la salud humana conllevaría (Williams, 2000). La modificación del perfil lipídico de la carne conduciría a la obtención de un producto más saludable y atractivo para el consumidor aunque generalmente a un precio superior (Choi et al., 2000).

La grasa intramuscular, localizada en las fibras musculares (Raes et al., 2004), es la más importante debido a que los PUFA de cadena larga se encuentran principalmente en los fosfolípidos del músculo (el 20-50% del total de ácidos grasos de los fosfolípidos son principalmente ácidos grasos de cadena larga de 18, 20 y 22 átomos de carbono y de 2 a 6

dobles enlaces) y, además, porque esta grasa no se puede separar de la carne antes de ser consumida (Wood et al., 2008).

La alimentación del ganado es uno de los factores que más afectan a la calidad de la carne (Wood et al., 2004). Asimismo se ha demostrado que la dieta de los animales juega un gran papel en la composición en ácidos grasos de la carne (Raes et al., 2004; Ponnampalam et al., 2001), que en parte es el resultado de la ingesta de los ácidos grasos de la dieta (Scollan et al., 2006). Por ello, se han utilizado diferentes estrategias nutricionales, incluyendo diversas fuentes de PUFA en la alimentación de los animales, para modificar el perfil lipídico de su carne y adaptarla a las demandas de los consumidores.

El éxito de esta incorporación dependerá del tipo de ración suministrada, de la duración del periodo de alimentación y de las fuentes de lípidos ricos en PUFA que se incorporen en la dieta (Pérez, 2010). La fuente lipídica rica en PUFA a utilizar y la forma de incorporarla en la dieta, dependerá de varios factores como: el coste y la disponibilidad de la fuente, el impacto de los ingredientes sobre la digestibilidad del pienso, la reacción de los consumidores y vendedores a las fuentes, y las regulaciones sobre la alimentación animal con respecto a los suplementos permitidos (Nieto y Ros, 2012).

Varios estudios han demostrado que la suplementación, a medio o largo plazo en la dieta, con fuentes lipídicas ricas en ácidos grasos n3, modifican el perfil de ácidos grasos de los tejidos, aumentando la proporción de PUFA n3 (en músculo y grasa), y mejorando la calidad nutritiva de la carne (Raes et al., 2004). Las principales fuentes de PUFA n3 utilizadas han sido por una parte las semillas y aceites de girasol, soja y lino (Givens et al., 2000), y por otra parte, también se han utilizado el aceite de cárcamo, el aceite de lino y el aceite de soja extrusada, que incrementan, además, el contenido de CLA en corderos y terneros (Enser et al., 1999; Madron et al., 2002). Sin embargo, como se comentaba anteriormente, en el rumen se produce la hidrogenación de los MUFA y PUFA, por lo que solo una baja proporción de estos ácidos grasos, pueden atravesar el rumen sin modificaciones, y ser absorbidos y depositados en la grasa corporal (Pérez, 2010).

La suplementación con semilla de lino y de lino extrusado, incrementa el contenido en PUFA n3, principalmente ácido linolénico, en ganado ovino y bovino (Scollan et al., 2006; Bas et al., 2007). Varios estudios han demostrado que la semilla de lino, con un alto contenido en C18:3n3, al incluirla en las dietas de rumiantes, puede aumentar su concentración en el

músculo (Raes et al., 2004). En la misma línea, Bas et al. (2007) alimentando corderos con semilla de lino, observaron un aumento en los niveles de C18:3n3 en la carne, proporcional al contenido de semillas de lino, incluidas en la dieta. El C18:3n3 puede ser transformado por elongación en PUFA n3 de cadena larga, sin embargo la eficacia de esta elongación es bastante baja.

También se han empleado aceites de plantas y semillas, en la suplementación de la dieta de rumiantes, para modificar el perfil lipídico de su carne (Givens et al., 2000). Estos aceites han sido utilizados en las dietas de los animales, para incrementar el contenido de PUFA n3 y de ácidos linoleico conjugado, en los lípidos del músculo (Schmid et al., 2006). En este sentido Manso et al. (2011), evaluaron el efecto de la incorporación de aceite de palma hidrogenado, aceite de oliva, aceite soja, o semillas de lino, al 3% en la dieta de ovejas, durante 28 días, sobre la composición en ácidos grasos de la carne de sus corderos lechales. Los corderos cuyas madres recibieron dietas con aceite de soja, presentaron mayor proporción de PUFA en la grasa subcutánea, con un 7,14%, en comparación con el resto de los grupos (aceite de palma 4,45%, oliva 4,80% y lino 6,23%). En la grasa intramuscular, la proporción de PUFA n3, fue mayor en los corderos cuyas madres recibieron dietas con aceite de lino, con una proporción de 3,49%, respecto a un 2,06% de las alimentadas con aceite de palma, un 1,76% de las alimentadas con aceite de oliva y un 1,53% con aceite de soja.

Es importante tener en cuenta que las grasas libres, en especial las ricas en PUFA de cadena larga, deben ser empleadas en dosis bajas, por su efecto tóxico para ciertas especies de bacterias ruminales, provocando alteración en la digestión ruminal, especialmente en la fermentación de la fibra (Jenkins, 1993). Además, producen una disminución del consumo de materia seca y de los parámetros productivos (Kitessa et al., 2001).

El pasto en general, es una buena fuente de PUFA n3, con posibles variaciones, dependiendo de la madurez y de la variedad de las plantas que lo componen. El pasto contiene una alta proporción de ácido linolénico (50% del total de ácidos grasos) y de ácido linoleico (10 al 20%) (Pérez, 2010). Así Wood y Enser (1997) observaron que los rumiantes alimentados a base de pastos frescos, presentaron mayor contenido de PUFA en su carne, que los que recibieron dietas a base de cereales. También Enser et al. (1998) reportaron que las dietas a base de pasto aumentaron la concentración de PUFA n3 en el músculo.

Para enriquecer en PUFA n3 de cadena larga, se han utilizado fuentes marinas ricas en estos ácidos grasos, principalmente en C18:2n6 y C18:3n3. Abril et al. (2003) indicaron que las microalgas son la fuente original de DHA, en la cadena alimentaria marina. Así se ha estudiado el efecto de la suplementación de la dieta, con algas marinas en diversas especies, sobre la composición de ácidos grasos en sus productos: huevos (Van Elswyk, 1997), carne de pollo (Sirri et al., 2003), carne de cordero (Díaz et al., 2011; Hopkins et al., 2014; Urrutia et al., 2016), carne de cerdo (Sardi et al., 2006).

En el caso de la carne de cordero, Hopkins et al. (2014) utilizando algas en una dosis del 1,92% (materia seca) durante 6 semanas, observaron que los corderos que recibieron la dieta con algas presentaban mayor contenido de PUFA n3 (220 mg/100 g de músculo) en comparación a los controles (124 mg/100 g de músculo). De igual manera, Urrutia et al. (2016), realizaron un estudio en corderos, comparando el efecto de la incorporación de semillas de lino y de algas en la dieta, sobre el perfil de ácidos grasos. Las tres dietas estudiadas fueron una dieta control con cebada y soja, una dieta a base de cebada y soja con un 10% de semilla de lino (dieta lino) y una dieta a base de cebada y soja con un 5% de semilla de lino y un 3,89% de algas (dieta lino-algas). Observaron que la proporción de PUFA n3 del músculo fue mayor en los corderos alimentados con la dieta de lino con 4,32 %, seguido de los alimentados con la dieta lino-algas con un 3,21%, siendo el grupo control el que presentó la menor proporción con un 1,04%.

El aceite de pescado suplementado en la dieta de los animales también ha sido utilizado, en con el fin de incrementar los ácidos grasos de cadena larga (EPA y DHA), en la carne de corderos (Ponnampalam et al., 2001; Díaz et al., 2011) y terneros (Scollan et al., 2001). Ponnampalam et al. (2001), incorporaron aceite de pescado, a una dosis de 1,5%, en la dieta de corderos, durante 46 días, obteniendo una menor concentración de PUFA y PUFA n3 (241 y 74 mg/100 g de músculo respectivamente), en el grupo control (alimentado con paja de avena y paja de alfalfa), que en el grupo suplementado con aceite de pescado, con concentraciones de 256 y 105 mg/100 g de músculo, de PUFA y PUFA n3 respectivamente. El mismo efecto observaron Díaz et al. (2011) al incorporar el aceite de pescado en dosis de 3,3% en la dieta de corderos durante 40 días, obteniendo un aumento del contenido en PUFA y PUFA n3 de cadena larga, pasando de 96,4 y 9,52 mg/100 g de músculo respectivamente en el grupo control, a 173 y 83,1 mg/100 g de músculo respectivamente, en el grupo suplementado con aceite de pescado.

La modificación del perfil lipídico de la carne afecta a sus características nutritivas y sensoriales. El aumento de PUFA en la carne, produce un incremento en los procesos oxidativos de la misma, durante su conservación (Díaz et al., 2011), ya que estos ácidos grasos insaturados son más susceptibles que los monoinsaturados y que los saturados a la oxidación. La oxidación de los lípidos afecta a la calidad de la carne, provocando pérdida de valor nutritivo, al disminuir el contenido en PUFA (principalmente los ácidos grasos n3 de cadena larga) y deterioro del olor y flavor, como se ha explicado anteriormente. Así, Nute et al. (2007) hallaron una correlación negativa entre el contenido de C20:5n3 y C22:6n3 del depósito intramuscular y la intensidad de flavor de la carne de ovino, señalando que el contenido alto en C20:5n3 y C22:6n3 eran valorados negativamente por los panelistas.

#### 2.4. PROCESOS OXIDATIVOS DE LA CARNE

El proceso de oxidación de los lípidos de la carne, se produce inmediatamente después del sacrificio del animal, y está favorecido por los cambios bioquímicos que acompañan a la transformación del tejido muscular en carne. La oxidación de las grasas, implica la degradación principalmente de los PUFA y la generación de radicales libres, lo que lleva al deterioro de proteínas, a la oxidación de pigmentos hemínicos, y a la producción de olor a rancio y sabores desagradables (Estévez y Cava, 2006), afectando también a la textura al color de la carne, produciendo una pérdida de uniformidad del color y un aumento del exudado (Buckley et al., 1989). La oxidación de los ácidos grasos se realiza, a través de reacciones químicas enzimáticas ( $\beta$ -oxidación) o no enzimáticas (auto-oxidación), produciendo aldehídos, alcanos, alcoholes y cetonas (Nieto y Ros, 2012). Se ha descrito además, que la acumulación de los productos secundarios de la oxidación lipídica (peróxidos, malonaldehído (MDA) y óxidos del colesterol) pueden inducir efectos biológicos adversos como citotoxicidad, mutagénesis, carcinogénesis (Guardiola et al., 1996), enfermedades cardiovasculares, etc. (Paniang-Vait et al., 1995).

Estos procesos oxidativos son uno de los factores que más reducen la calidad y aceptabilidad de la carne (Morrissey et al., 1998, Buckley et al., 1995) y es el principal factor que conduce al deterioro de la misma durante su conservación (Ahn et al., 2007).

Los factores que originan la oxidación de la carne son diversos y están relacionados tanto con las propiedades intrínsecas de la misma, como por los distintos pasos del procesado a los que

es sometida (Faustman et al., 2010). Entre los principales factores que afectan a dicha oxidación se encuentran: la insaturación de los ácidos grasos, la superficie en contacto con el oxígeno, la presencia de enzimas (lipasas), la presión parcial de oxígeno, la presencia de metales, las radiaciones, así como las condiciones de almacenamiento (temperatura, luz, humedad relativa) (Jadhav et al., 1995).

#### 2.4.1. Mecanismo de oxidación de la carne

Los principales compuestos que inician las reacciones de oxidación en los sistemas biológicos son las especies reactivas del oxígeno (ROS). Las ROS son moléculas muy reactivas, producidas en algunos procesos metabólicos en los que participa el oxígeno (Sies, 2005), entre las que se encuentran los iones de oxígeno, los radicales libres y los peróxidos. Las ROS cumplen un rol importante en los procesos inmunitarios y de detoxificación de xenobióticos (Urquiaga y Leighton, 2000), siendo beneficiosas en concentraciones adecuadas. Si hay un desbalance entre la producción de ROS y los mecanismos de defensa antioxidantes, las ROS se hacen perjudiciales debido a la capacidad que presentan de provocar daños en las moléculas biológicas. A este desequilibrio se conoce como estrés oxidativo, que fue definido por Sies (1985) como “la perturbación del balance prooxidante-antioxidante de un organismo a favor del primero, provocando un daño potencial al que denominamos daño oxidativo.”

Los radicales libres (RL) pueden ser una molécula, un átomo o ion, que poseen un electrón desapareado en su orbital más externo que los hace reaccionar con otras moléculas orgánicas en procesos de óxido-reducción (González San José et al., 2001). Los RL debido a su electrón desapareado, son más reactivos que los no-radicales, y entre los diferentes radicales varían ampliamente su reactividad. La forma más frecuente en que se forman los radicales libres es por la adición de un electrón a una molécula estable, habitualmente como resultado de la reacción entre metales de transición como el hierro o el cobre y diversas especies de oxígeno como el peróxido de hidrógeno e incluso el oxígeno molecular (González San José et al., 2001). Cuando un radical reacciona con una molécula no radical, puede ceder o captar electrones, o puede, simplemente unirse a ella. En cualquiera de los casos la molécula no radical se convierte en radical libre y se desata una reacción en cadena, generando a su vez cada radical libre otro nuevo radical libre.

Los mecanismos químicos de la oxidación consisten en una reacción en cadena mediada por RL en la que se diferencian tres fases: iniciación, propagación y terminación (Hamilton et al., 1997). La primera etapa de la oxidación de los lípidos, implica la sustracción de un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de la cadena alifática del ácido graso, realizado por la acción de una especie reactiva al oxígeno (principalmente hidroxilo), como resultado de esta reacción se forman radicales alquilo o radicales peróxilo (Gray y Monahan, 1992; Nieto y Ros, 2012). La reacción se propaga en presencia de oxígeno, produciéndose una variedad de radicales por la reducción de oxígeno, donde el peroxiradical producido, secuestra hidrógenos de otras cadenas de hidrocarburo de los ácidos grasos, originando nuevos radicales libres, de esta manera se perpetua la reacción en cadena (Sánchez-Escalante et al., 2008).

Los radicales producidos como el anión superóxido ( $O_2^{*-}$ ), radical perhidroxilo ( $HO_2^*$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el radical hidroxilo ( $HO^*$ ) pueden participar directamente o indirectamente en los procesos oxidativos en la carne (Kanner, 1994). La reacción en cadena se detiene al encontrarse dos radicales libres, ya que al unirse forman un producto no radical (Steele, 2004; Monahan et al., 1992). Gray et al. (1996) indicaron que la oxidación de lípidos se puede controlar de manera efectiva, o reducir al menos al mínimo con el uso de antioxidantes, que actuarían deteniendo la cadena oxidativa.

Si bien estos procesos oxidativos ocurren habitualmente en el organismo, existe una gran variedad de sistemas de defensa antioxidante que tratan de mantener el balance oxidativo del organismo, evitando los riesgos que conlleva el estrés oxidativo (Sies, 2005). Sin embargo, tras la muerte del animal, estos mecanismos se agotan rápidamente, y aumenta la producción de radicales libres (hidroxilo y oxoferrilo) como producto de los fenómenos *post mortem* que ocurren en la carne, causando la oxidación de la misma (Monahan et al., 1993; Rhee et al., 1996), y produciéndose un rápido incremento de la concentración de los productos de oxidación de los lípidos.

#### 2.4.2. Oxidación de los lípidos de la carne

Durante la oxidación de la carne los ácidos grasos insaturados reaccionan con las ROS formando hidroperóxidos, generalmente llamados peróxidos o productos primarios de la oxidación (Gray y Monahan, 1992). Esta oxidación primaria continúa con una serie de

reacciones que conducen a la degradación de los lípidos y al desarrollo de la rancidez oxidativa (Frankel, 1991).

Morrissey et al. (1998) observaron que los eventos ocurridos previos al sacrificio como el estrés, los daños como golpes o cortes durante el transporte o durante la espera en el matadero, y los ocurridos post-sacrificio como cambios en el pH y en la temperatura de las canales, la estimulación eléctrica, etc., pueden afectar al grado de peroxidación de los lípidos en los tejidos musculares. Para Kitts (1997) la velocidad de oxidación de las grasas depende de factores como la temperatura, el pH, el grado de insaturación de los ácidos grasos, de los iones metálicos de transición, así como de la disponibilidad de oxígeno.

Los procesos a los que son sometidos la carne y los productos cárnicos, como por ejemplo la maduración, el calentamiento y cocinado, los procesos de reducción de tamaño (picado, troceado y emulsificación), el deshuesado, la adición de aditivos (como sal, nitritos, especias, y antioxidantes), la temperatura durante la manipulación y la distribución, la disponibilidad de oxígeno, y el almacenamiento prolongado (Rhee, 1988; Kanner, 1994), también pueden influir en la velocidad de la peroxidación lipídica. El oxígeno es uno de los principales factores implicados en el desarrollo de la peroxidación de lípidos en la carne cruda y principalmente cuando se somete a procesos que causan ruptura de membranas (picado y troceado) ya que se produce una mayor exposición de los fosfolípidos al oxígeno, acelerando el desarrollo de rancidez oxidativa (Ladikos y Lougovois, 1990).

Salvatori et al. (2004) han señalado que los compuestos más susceptibles de sufrir reacciones de auto-oxidación son los PUFA que componen los lípidos musculares. Por tanto, aumentando el grado de insaturación de las membranas musculares se reduce la estabilidad oxidativa del músculo (Nieto y Ros, 2012).

Los hidroperóxidos producidos durante la oxidación no presentan olor, no obstante, su degradación da lugar a una enorme variedad de compuestos volátiles que son los responsables de los matices desagradables de la carne cocinada. En las reacciones de autooxidación los hidroperóxidos se descomponen espontáneamente en los radicales hidroperoxi y alcoxi y en una variedad de productos secundarios volátiles y no volátiles (Mottram et al., 1982). Los radicales alcoxi dan lugar a una amplia gama de compuestos de carbonilo (aldehídos, cetonas y alcoholes), hidrocarburos y furanos que contribuyen al deterioro del sabor, generando una serie de matices desagradables causantes de la rancidez (Frankel et al., 1996a), dañando la

calidad sensorial de la carne cocinada (Chang y Petterson, 1977; Dupuy et al., 1987), y continuar aportando radicales libres para mantener la reacción en cadena (Kanner, 1994; Gray et al., 1996; Kitts, 1997). Además, como producto de la condensación que puede afectar a los hidroperóxidos, se generan dímeros y polímeros que al ser oxidados originan productos volátiles. También se ha indicado que los procesos oxidativos ocurren tanto en los peróxidos originales como en los aldehídos insaturados, y que su degradación origina productos secundarios como epóxidos, peróxidos cíclicos y endoperóxidos bicíclicos (Enser, 1987), que al ser descompuestos forman productos volátiles y dialdehídos, favoreciendo el deterioro del flavor de la carne (Ladikos y Lougovois, 1990).

Por lo tanto, el flavor de la carne será el resultado de la presencia o no de cada uno de estos compuestos, de las proporciones en las que se encuentren y del umbral de percepción.

Los aldehídos derivados de la oxidación de las cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos son los principales responsables del olor característico de la grasa rancia, conocido como “off flavors” (Frankel, 1991; Ahmad, 1996), siendo fácilmente detectados por los consumidores en concentración de 1 µg/kg (Gray y Crackel, 1992).

La oxidación de los lípidos de la carne puede ser evaluada a través del método de cuantificación de los compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico (TBARS), que son originados durante los procesos de oxidación de los lípidos (Melton, 1983). Este método es uno de los más empleados en carne y los productos cárnicos para evaluar la dimensión de la oxidación lipídica (Gray, 1978; Melton, 1983).

#### 2.4.3. Oxidación de las proteínas de la carne

Los procesos oxidativos de las proteínas comenzaron a estudiarse hace más de 50 años, por la estrecha relación que presentaban los daños oxidativos en las proteínas, con las enfermedades relacionadas con la edad (Mercier et al., 1995). Sin embargo, las investigaciones sobre la susceptibilidad que presentan las proteínas de los alimentos a los fenómenos de oxidación han sido más recientes, siendo actualmente la oxidación de las proteínas de la carne un tema de investigación (Estévez, 2011).

Martinaud et al. (1997) informaron de la susceptibilidad de las proteínas miofibrilares a los procesos oxidativos. La oxidación de las proteínas de la carne conlleva varios cambios

biológicos (Mercier et al., 2004), generando una disminución de su funcionalidad (Decker et al., 1993; Xiong y Decker, 1995). Estas modificaciones pueden afectar negativamente a la calidad sensorial de la carne fresca y de los productos cárnicos en términos de textura, ternura y color (Ventanas et al., 2006).

Shacter (2000) definió la oxidación de proteínas como la modificación covalente de una proteína causada directamente por la acción de un ROS o indirectamente por la reacción con productos secundarios originados en los procesos oxidativos. La oxidación de las proteínas de la carne puede estar asociada a cualquiera de los factores pro-oxidativos involucrados en la formación de ROS (Stadtman y Levine, 2003; Ventanas et al., 2006). El mecanismo de acción de la oxidación proteica, al igual que la oxidación de lípidos, es la pérdida de un electrón. Esto ocurre normalmente mediante la sustracción de un átomo de hidrógeno (electrón + protón) en presencia de un agente oxidante, como son los RL. Los procesos mediante los cuales se produce la oxidación de proteínas son también similares a los de la oxidación lipídica, con etapas de iniciación, propagación y finalización (Ventanas et al., 2006).

Dependiendo del ROS al que se exponen las proteínas, la oxidación puede ser específica (como en el caso de oxidación catalizada por un metal, que daña a las proteínas con cúmulos de hierro-azufre o con hierro libre por formación de radical hidroxilo) o inespecífica (como ocurre en la oxidación por radiación en la que se produce "oxígeno singlete") (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2006).

La oxidación de proteínas puede ser clasificada como reversible o irreversible. La oxidación reversible constituye, en ocasiones, una forma de activar o desactivar proteínas que tienen una función en la regulación redox, como en el caso de la formación de puentes disulfuro entre grupos tioles, de cisteínas cercanas, dentro de la conformación tridimensional de una proteína. La oxidación irreversible se debe a la reacción de proteínas con ROS, algunos de los cuales son radicales libres generados por radiación ionizante o por oxidación catalizada por un metal (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2006).

En las proteínas los radicales libres reaccionan con las cadenas laterales de aminoácidos, produciéndose la oxidación de las proteínas a través de los procesos de carbonilación, ruptura de enlaces peptídicos, la nitración y la formación de enlaces proteína-proteína (Berlett y Stadtman, 1997).

Berlett y Stadtman (1997) informaron que los residuos de aminoácidos de las proteínas son susceptibles a la oxidación por un radical hidroxilo. Los aminoácidos sulfurados (cisteína y metionina) y los aminoácidos aromáticos (triptófano, fenilalanina y tirosina), son particularmente susceptibles a la oxidación por casi todas las formas de ROS. Como resultado de estas reacciones se generan diversos productos de oxidación, que dependen del aminoácido residuo de la proteína afectado por este ataque (Davies y Dean, 1997).

La oxidación proteica involucra la formación de una gran diversidad de moléculas y productos finales de oxidación (Dean et al., 1997). Cada aminoácido posee una ruta específica de oxidación, dando lugar a productos de oxidación específicos.

La oxidación de las proteínas genera cambios irreversibles en los grupos funcionales de los aminoácidos originales, estos cambios involucran la producción de una gran variedad de compuestos de oxidación con enlaces cruzados (puentes disulfuro, ditirosinas) y carbonilos (Berlett y Stadtman, 1997).

La formación de compuestos carbonilos se ha destacado como uno de las modificaciones más relevantes en las proteínas oxidadas (Stadtman y Levine, 2003; Xiong, 2000). De hecho, la cuantificación total de grupos carbonilos de proteínas mediante la técnica dinitrofenilhidrazina (DNPH) (Oliver et al., 1987) es probablemente el método más empleado para evaluar la oxidación de proteínas en la carne (Estévez, 2011).

Debido a que existen varios mecanismos para la inducción de la oxidación de proteínas y, a que todas las cadenas laterales de los aminoácidos pueden llegar a ser modificadas por la oxidación, existe una gran variedad de modificaciones oxidativas en la proteínas como carbonilación, nitración, formación de enlaces proteína-proteína, ruptura de enlaces peptídicos glutationilación, s-nitrosilación (Shacter, 2000). Estas modificaciones, inducen cambios en las propiedades físicas de las proteínas, incluyendo la fragmentación, agregación, pérdida de solubilidad y funcionalidad, y disminución de la susceptibilidad a la proteólisis (Xiong, 2000), alterando tanto las propiedades sensoriales de la carne como su digestibilidad (Ventanas et al., 2006; Bertram et al., 2007).

Martinaud et al. (1997) y Frederiksen et al. (2008), reiteran que la oxidación de las proteínas de la carne, implica pérdida irreversible de aminoácidos esenciales y alteración de la

digestibilidad de las proteínas oxidadas, lo que conduce a una pérdida importante de su valor nutritivo.

Las reacciones oxidativas afectan a la actividad de las proteasas del músculo y a la funcionalidad de las proteínas miofibrilares (Xiong, 2000), originando cambios de textura y color en la carne fresca y sus productos, disminuyendo la calidad de la carne (Mercier et al., 2004).

Rhee et al. (1985) señalaron por un lado la asociación que existe entre los procesos oxidativos, y por otro, que los factores que favorecen la iniciación de la oxidación de lípidos y proteínas también determinan la oxidación de la mioglobina y por ello, el grado de decoloración que afecta a la carne fresca estaría estrechamente relacionado con la intensidad con que se producen los procesos oxidativos (Faustman et al., 1989a).

Las proteasas intracelulares tienen como función reconocer y degradar las proteínas oxidadas. Sin embargo, los radicales libres pueden reaccionar con este complejo proteolítico, provocando descenso en su funcionalidad. Si las proteínas oxidadas no se eliminan, se acumulan alterando la función celular, causando toxicidad (Cecarini et al., 2007).

#### 2.4.4. Sistemas de defensa biológicos frente a la oxidación

Como la formación de ROS es inherente al metabolismo aerobio, el organismo consta de una variedad de sistemas de defensa antioxidante y de reparación para protegerse frente a radicales libres y a los daños que éstos provocan (Chaudiere y Ferrari-Iliou, 1999), manteniendo un equilibrio en condiciones normales entre la producción de RL y otras especies reactivas con los mecanismos antioxidantes.

Existen dos vías fundamentales para proteger al organismo de los RL; enzimáticas y no enzimáticas que a su vez pueden ser compuestos endógenos producidos por el organismo, y compuestos exógenos suministrados en los alimentos, siendo su localización intracelular o extracelular (Rice-Evans y Burdon, 1993). Los antioxidantes endógenos pueden actuar en conjunto con los exógenos, que pueden formar parte de la dieta diaria (Zamora, 2007).

#### 2.4.4.1. Sistemas enzimáticos

Hay una serie de enzimas que actúan como antioxidantes por su capacidad de inhibir la acción de las ROS, metabolizando los radicales libres o sus metabolitos intermediarios reactivos, transformándolos en productos sin efectos nocivos para los tejidos, proporcionando un mecanismo de defensa al organismo contra el daño oxidativo (Caballero et al., 2006). Los sustratos o agentes reductores empleados en estas reacciones pueden ser transformados a su forma inicial, utilizando el NADPH producido en las diferentes vías metabólicas, siendo nuevamente activos (Chihuilaf et al., 2002).

Las principales enzimas con actividad antioxidantes en la carne son la superóxido dismutasa (SOD), la glutatión peroxidasa (GPX) y la catalasa (CAT), la actividad de estas enzimas varía entre las distintas especies (Pradhan et al., 2000) y con el tipo de músculo considerado (Hernández et al., 2006). Además, el nivel de actividad de estas enzimas podría presentar una gran variación entre animales de la misma especie, lo que puede ser debido a que la actividad de estas enzimas se ve afectada por la dieta. Gatellier et al. (2004) reportaron un aumento en la actividad de las enzimas superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en aquellos animales que consumían dietas a base de hierbas.

Superóxido dismutasa (SOD) es una metaloproteína con actividad citosólica y mitocondrial, está presente en todas las células, aunque en cada tejido se encuentra a diferentes concentraciones dependiendo de la actividad metabólicas de las células (Criado y Moya, 2009). Es responsable de la conversión de radicales superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) en especies no reactivas como el agua (Yu, 1994). Esta enzima a través de la reacción de Fenton generaría radicales de hidroxilo, que son aún más tóxicos que el primero, por lo que para evitar estos efectos nocivos la enzima CAT entra en juego eliminando el agua oxigenada y produciendo  $O_2$  y 2 moléculas de agua (Caballero et al., 2006).

En los organismos se diferencian tres formas de superóxido dismutasa según su ubicación: SOD1 se encuentra en el citoplasma, SOD2 en las mitocondrias y SOD3 en el líquido extracelular. SOD1 y SOD3 contienen cobre y zinc, mientras que SOD2 tiene manganeso en su centro reactivo (Criado y Moya, 2009). La biosíntesis de esta enzima está regulada por la concentración del sustrato sobre el cual actúa (Chihuilaf et al., 2002).

Glutación peroxidasa (GPX) es una selenoproteína de actividad citosólica y mitocondrial. Existen al menos 3 formas de GPX selenio dependientes que difieren en su ubicación y en su especificidad de sustrato: una forma intracelular o celular, una extracelular o plasmática y otra con actividad específica para los fosfolipoperóxidos que, por lo general, está asociada a la membrana celular (Criado y Moya, 2009).

La GPX, tiene como sustrato el glutatión (GSH), y actúa sobre el peróxido de hidrógeno catalizando su descomposición y originando formas más estables como son los hidróxidos y dos moléculas de agua (Yu, 1994). El peróxido de hidrógeno en bajas concentraciones estimula la actividad de esta enzima (Chihuailaf et al., 2002).

En la carne, la GPX puede descomponer los peróxidos de hidrógeno y lipoperóxidos, formados durante oxidación lípidos, que actúan como moléculas prooxidantes (Gatellier et al., 2004).

Catalasa (CAT) es una hemoproteína enzimática que se presenta en forma de hemotetrámero y se localiza principalmente en los peroxisomas y mitocondrias (Criado y Moya, 2009). Su función es convertir el agua oxigenada ( $H_2O_2$ ) en especies no reactivas como en agua ( $H_2O$ ) y oxígeno ( $O_2$ ), actuando en conjunto con la GPX a concentraciones altas de  $H_2O_2$  (Yu, 1994). Cuando el peróxido de hidrógeno se encuentra en altas concentraciones se estimula la actividad enzimática de la catalasa (Chihuailaf et al., 2002).

#### 2.4.4.2. Sistemas no enzimáticos

En el organismo también hay un sistema de antioxidantes no enzimáticos, formado por una serie de sustancias con capacidad antioxidante a bajas concentraciones, y que en presencia de un sustrato oxidable, ceden un electrón retrasando o inhibiendo la oxidación del sustrato. Estas sustancias pueden capturar RL originando especies menos nocivas (Chihuailaf et al., 2002). Existen una gran variedad de antioxidantes no enzimáticos, de bajo peso molecular, destacándose por su importancia el glutatión reducido, las vitaminas E y C, y los  $\beta$ -carotenos. Otros compuestos que también forman parte de este grupo de antioxidantes son los compuestos fenólicos, el ácido  $\alpha$ -lipoico, ácido úrico, bilirrubina, algunos azúcares y aminoácidos, la coenzima Q o ubiquinona (y varios derivados de ésta), la melatonina, quelantes de metales pesados y taninos (Morán, 2013).

Los antioxidantes no enzimáticos se pueden clasificar en hidrosolubles o liposolubles y de localización intracelular o extracelular. Los antioxidantes hidrofílicos se ubican principalmente en el citosol, en la matriz mitocondrial y nuclear y en los fluidos extracelulares, incluyen vitamina C, glutatión, ácido úrico, ergotioneína y flavonoides polifenólicos (Chihuailaf et al., 2002). Los antioxidantes lipofílicos se localizan en las membranas celulares, actuando en la interrupción de la peroxidación lipídica. En este grupo encontramos carotenoides, vitamina A, coenzima Q y vitamina E (Lauridsen, 1998).

El ácido úrico es un producto final del metabolismo de las purinas y su función como antioxidante biológico, tanto intra como extracelular es la de prevenir la oxidación de la vitamina C y también la de formar complejos con los metales hierro y cobre (Miller et al., 1993). Las proteínas de almacén y transporte de iones metálicos, también actúan como antioxidantes no enzimáticos al captar los iones  $Fe^{+3}$  y  $Cu^{+2}$ , que en alta concentración inducen la producción de RL (Chihuailaf et al., 2002; Morán, 2013).

Otro antioxidante no enzimático es la forma reducida del glutatión (GSH) que actúa frente a numerosos compuestos oxidantes, tales como peróxido de hidrógeno, superóxido, hidroxilo y especies reactivas del carbono; además, reduce el RL tocoferoxilo y deshidroascorbato y los reconvierte a su forma original (Chihuailaf et al., 2002).

## 2.5. UTILIZACIÓN DE ANTIOXIDANTES EN PRODUCCIÓN ANIMAL

El aumento del contenido en ácidos grasos poliinsaturados, hace que la carne sea más susceptible a la oxidación (Salvatori et al., 2004) con los efectos negativos sobre la calidad de la carne que conlleva (Campo et al., 2006), como coloraciones oscuras (Faustman et al., 2010), reducción de la capacidad de retención de agua y aumento de la cantidad de exudado, que afectan a la jugosidad, a la percepción del color y a la sensación de dureza. Como se ha comentado anteriormente, la oxidación de las grasas afecta además a la composición química del músculo y, como consecuencia, a su valor nutritivo por la pérdida de algunos PUFA (Stan, 1992) y por la posible producción de compuestos tóxicos. En ese sentido, la ingestión de RL y de otros productos derivados de la oxidación lipídica, parece estar relacionada con el desarrollo de enfermedades graves en los consumidores tales como cáncer, arteriosclerosis, problemas cardiovasculares y Alzheimer (Abheri et al., 2010).

Díaz et al. (2011) en carne de cordero enriquecida en PUFA n3, observaron que el aumento de PUFA en la carne produjo un incremento en los procesos oxidativos de la misma, con mayores valores de TBARS durante la conservación, al ser estos ácidos grasos son mucho más susceptibles que los MUFA y que los SFA a la oxidación. Al modificar el perfil lipídico de la carne aumentando los ácidos PUFA n3, disminuye la estabilidad oxidativa de la carne aumentando el contenido de TBARS, existiendo una correlación positiva entre el contenido de PUFA n3 de la carne y grado de oxidación lipídica (Nute et al., 2007; Moloney et al., 2012). Cuanto mayor sea el grado de instauración de los PUFA mayor es la susceptibilidad a la oxidación (Raes et al., 2004).

Estudios realizados en carne y productos cárnicos evaluando la estabilidad oxidativa, observaron que la concentración de TBARS se incrementa a medida que el periodo de conservación aumenta, hasta llegar un valor máximo, donde los valores comienzan a disminuir a causa de la reactividad del MDA en presencia de los grupos amino de aminoácidos y de moléculas de ADN (Andreo et al., 2001). La nutrición animal juega un papel importante en la regulación de procesos biológicos en el músculo, que se refleja en la calidad de la carne (Andersen et al., 2005). Existen estudios que indican que la carne producida en condiciones de pastoreo presenta menores valores de TBARS y producción de volátiles, que la carne que proviene de animales alimentados con concentrado, debido a la protección que les confieren los antioxidantes naturales presentes en el pasto (Descalzo et al., 2005). Mercier et al. (2004) demostraron que una dieta de acabado en terneros de raza Charolesa con pastos ofrecía una mejor protección al músculo frente a la oxidación de lípidos y proteínas en comparación con animales acabados con pienso de finalización.

Por tanto, en algunas situaciones se hace necesario el empleo de sustancias antioxidantes para prevenir los procesos oxidativos que se puedan producir durante el procesado de la carne y de los productos cárnicos y que pueden alterar las características y calidad de esa carne (Kanner, 1994; Gray et al., 1996). Una estrategia empleada para reducir la aparición de fenómenos de oxidación en la carne y/o los productos cárnicos es el uso de antioxidantes.

Un antioxidante es una sustancia que, al estar presente en baja concentración comparado con cualquier otro sustrato oxidable, previene, retrasa o inhibe significativamente la oxidación de aquel sustrato (Halliwell y Gutteridge, 1999). De tal manera que, al reaccionar con el radical

libre la sustancia antioxidante le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical débil, con escasos o nulos efectos tóxicos.

Un antioxidante ideal debe cumplir como requisitos el ser inocuo, no alterar las propiedades organolépticas del alimento, ser efectivo a bajas concentraciones, ser fácil de incorporar al producto y tener una buena distribución en el mismo, ser estable durante el procesado y almacenamiento y estar disponible a bajo coste (Coppen, 1983).

Uno de los métodos más utilizados para inhibir la oxidación de la carne implica el aumento del nivel de antioxidantes a través de la dieta (Demirel et al., 2004; Gobert et al., 2010). Es necesaria la incorporación al organismo de ciertos oligoelementos, como el cobre, hierro, cinc, selenio y manganeso, ya que forman parte del núcleo activo de las enzimas antioxidantes, favoreciendo la actividad endógena de las mismas (Criado y Moya, 2009).

Sin embargo hay que tener en cuenta, que una sustancia con propiedades antioxidantes *in vitro* no necesariamente puede serlo al administrarla directamente en la dieta, al tener que ser convertida en forma utilizable en los tejidos e interactuar con otras sustancias (Azzi et al., 2004).

Los antioxidantes exógenos se metabolizan y se depositan en el músculo, especialmente en las membranas de los tejidos donde su acción antioxidante es más efectiva para inhibir la oxidación de los lípidos de la carne (Wulf et al., 1995). Además, un antioxidante administrado en la dieta puede ser metabolizado por las enzimas digestivas, puede no absorberse o presentar dificultad en su absorción, o absorberse en baja cantidad y ser retenido solo en algunos tejidos. También el nivel de inclusión del antioxidante en la dieta es un punto a considerar ya que si las dosis son inadecuadas no se obtendrá un efecto antioxidante, o incluso puede ocurrir un incremento de los procesos oxidativos (Rietjens et al., 2002).

Por esa razón se hace necesario las investigaciones *in vivo*, administrando a los animales antioxidantes, y así poder definir las dosis más apropiadas para cada especie, el uso potencial del antioxidante, y el efecto sobre los animales y en la salud humana. Los efectos de los antioxidantes sobre la oxidación de los alimentos dependen de su concentración (Frankel et al., 1996b), la polaridad, y el medio (Samotyja y Malecka, 2007), así como de la presencia de otros antioxidantes (Decker, 2002).

La eficacia de un antioxidante depende de varios factores, incluyendo su reactividad química (por ejemplo, hacia la captación de radicales y de quelación de metales), la interacción con otros componentes de los alimentos, las condiciones ambientales (por ejemplo, pH), y la ubicación física del antioxidante en diferentes sistemas alimentarios (por ejemplo, aceite y emulsiones agua/aceite) (Decker et al., 2005).

Cada antioxidante posee una afinidad hacia un determinado radical libre o hacia varios, pudiendo actuar en los diferentes procesos de la secuencia oxidativa y tener más de un mecanismo de acción.

### 2.5.1. Clasificación de los antioxidantes

Los antioxidantes se han dividido en dos grupos según su mecanismo de acción: antioxidantes primarios o eliminadores de radicales y antioxidantes secundarios o que previenen la oxidación (Halliwell, 1999).

Los antioxidantes primarios son la primera línea de defensa frente a las ROS. Estos son capaces de inhibir la iniciación y propagación de las reacciones de oxidación mediante la inactivación de los RL que participan en las reacciones oxidativas, convirtiéndolos en productos estables (Halliwell, 1999). Este es el caso de los compuestos fenólicos que pueden donar un átomo de hidrógeno o un electrón al radical libre convirtiéndolo en un producto estable (Apak et al., 2007), también actúan quelando el oxígeno y descomponiendo peróxidos (Osawa, 1994). Como consecuencia de esta reacción el antioxidante se oxida a su vez, formándose un radical que no propaga la reacción de oxidación.

Los antioxidantes secundarios son también conocidos como antioxidantes preventivos o "bloqueantes de cadena" (chain-breaking), estos antioxidantes actúan desactivando las especies activas y los posibles precursores de los radicales libres, reduciendo su velocidad de formación (Halliwell, 1999). Los compuestos quelantes de iones metálicos reducen la velocidad de las reacciones, por lo que también se consideran antioxidantes preventivos. Los más utilizados son agentes quelantes de metales como el EDTA o el ácido cítrico (Ordoñez et al., 1998).

Los antioxidantes desde el punto de vista de su origen se pueden clasificar en sintéticos o naturales. Los primeros han sido ampliamente utilizados en la alimentación animal y en la

industria alimentaria con el fin de mejorar la estabilidad oxidativa de alimentos. Generalmente son de relativo bajo coste y alta efectividad, pero cada vez están siendo más cuestionados debido a que algunos tienen efectos carcinogénicos y mutagénicos (Valenzuela y Nieto, 1996; Moreira et al., 2005).

Durante años los antioxidantes sintéticos han sido utilizados de forma habitual en la elaboración de productos manufacturados, como son los piensos de los animales. Los compuestos como el butil-hidroxi-anisol (BHA, E-320), butil-hidroxi-tolueno (BHT, E-321), galato de propilo (PG) y la terbutil-hidroquinona (TBHQ) han sido ampliamente utilizados, tanto en la carne como en los productos cárnicos para controlar las reacciones de oxidación (Shahidi et al., 1987; Shahidi, 2000). Estos antioxidantes eliminan los radicales libres de los alimentos cediendo un hidrógeno (Choe y Min, 2005), reduciendo de esta forma la fase de propagación de la oxidación. No obstante, su incorporación en los alimentos está limitada a ciertas cantidades, y por otra parte estos antioxidantes presentan inconvenientes, ya que son bastante inestables y se descomponen fácilmente a altas temperaturas (Ahn et al., 2007).

En relación a sus efectos carcinogénicos, se ha demostrado que el uso de estos compuestos, estimula el crecimiento de células cancerígenas en el estómago, el hígado y el sistema reproductivo de los animales (Schwarz et al., 2001), por lo que ha aumentado la preocupación por los posibles efectos dañinos de su consumo en la salud humana, una situación que ha dado lugar a la prohibición de estos compuestos en algunos países de Europa, Canadá y Japón (Shahidi, 2000). Sin embargo, para la satisfacción de los consumidores, en los últimos años se ha incrementado el interés por la utilización de alternativas de origen natural, que son percibidos por los consumidores como seguros y saludables (Fasseas et al., 2007; Li et al., 2010), en sustitución de los antioxidantes sintéticos.

El empleo de sustancias de origen natural en forma de compuestos puros, extractos y aceites esenciales como antioxidantes naturales ha aumentado en la industria de la carne y de los piensos de animales (Peng et al., 2005). Los más empleados son el ácido ascórbico (vitamina C), la vitamina E y eventualmente en conjunto con la vitamina A y su precursor de origen vegetal, el  $\beta$ -caroteno, y en la actualidad, los polifenoles están siendo también ampliamente estudiados. Entre los productos de origen natural que presentan la capacidad de reducir los fenómenos oxidativos de lípidos y proteínas podemos mencionar las especias, frutas,

extractos vegetales y productos derivados de semillas oleaginosas, entre otros (Sánchez-Escalante et al., 2003).

### 2.5.2. Vitamina E

Son un grupo de compuestos liposolubles con propiedades antioxidantes considerados como la primera línea de defensa ante los fenómenos de peroxidación de los lípidos (Traber y Atkinson, 2007), su absorción y transporte se relaciona con el de los lípidos y se encuentran en las membranas celulares de todas las células del cuerpo, siendo importantes en el normal funcionamiento de las células del sistema inmune (Pekmezci, 2011). Son nutrientes esenciales que no pueden ser sintetizados por los animales, siendo solo sintetizados por vegetales superiores y cianobacterias. Es por ello que la vitamina E debe ser incorporada en la dieta, encontrándose en muchos alimentos como son los pescados grasos, huevos, hígado, productos lácteos, semillas de cereales, aceites vegetales poliinsaturados, frutos secos, y verduras de color verde (Debier y Larondelle, 2005). Son compuestos insolubles en agua y solubles en alcohol, otros disolventes orgánicos (éter dietílico, acetona y cloroformo), y en aceites (Debier y Larondelle, 2005).

La vitamina E presenta en su estructura una hidroquinona metilada unida a una cadena isoprenoide (Wang y Quinn, 1999). Se divide en 8 compuestos naturales distintos, que se diferencian estructuralmente en dos grandes grupos, los tocoferoles y los tocotrienoles, encontrándose cuatro formas isoméricas de tocoferoles y otras cuatro de tocotrienoles (Schneider, 2005). Los tocoferoles se diferencian de los tocotrienoles por la posición y el número de grupos metilos en el anillo fenólico. Los tocotrienoles presentan dobles enlaces en las posiciones 3, 7 y 11 de la cadena isoprenoide, en cambio en los tocoferoles la cadena isoprenoide es saturada (Mustacich et al., 2007; Hacquebard et al., 2008), y los tocotrienoles presentan menor actividad antioxidante que los tocoferoles, por lo que la capacidad para proteger a las grasas y a los aceites de los procesos oxidativos es distinta entre ellos (Delgado-Zamarreño et al., 2001).

Tanto en el grupo de los tocoferoles, como en el grupo de los tocotrienoles existen las formas alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), gamma ( $\gamma$ ) y delta ( $\delta$ ), definidas por el número de grupo metílicos en el anillo aromático. Cada uno de los isómeros presenta un anillo aromático (cromanol), con un grupo hidroxilo y una cadena poliprenoide saturada (Schneider, 2005).

El más común y con mayor valor biológico es el  $\alpha$ -tocoferol. Este isómero presenta tres grupos metilo en el anillo aromático, en cambio los isómeros  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  solo presentan uno o dos grupos metilo en el anillo aromático. Esta diferencia hace que el  $\alpha$ -tocoferol sea bastante más activo que los otros tres isómeros (Schneider, 2005).

Los isómeros pueden ser esterificados por un grupo alcohol, dando origen a diferentes formas de éster de vitamina E, siendo la forma acetato d- $\alpha$ -tocoferol la forma éster natural más frecuente y de mayor estabilidad y actividad antioxidante que su forma sintética acetato de dl- $\alpha$ -tocoferol.

Según la posición en que se encuentren los grupos metilos, los isómeros pueden presentar configuración R (si los grupos metilo se encuentran en el mismo plano) o S (si los grupos metilos se encuentran en planos diferentes), la forma más activa de la vitamina E presenta configuración RRR  $\alpha$ -tocoferol (sus tres grupos metilos en la misma posición) también llamada d- $\alpha$ -tocoferol y representa aproximadamente el 90% de la vitamina E que se encuentra en los tejidos animales (Bramley et al., 2000). Si bien la absorción del acetato de dl- $\alpha$ -tocoferol (forma éster) se asemeja a la del  $\alpha$ -tocoferol natural (Iqbal y Hussain, 2009), existirían limitaciones para la hidrólisis del enlace éster cuando se emplea la forma sintética en grandes cantidades (Huang y Appel, 2003)

En los piensos comerciales el isómero de acetato de all-rac-tocoferol (acetato de dl- $\alpha$ -tocoferol) es el más empleado por presentar mayor estabilidad. En producción animal la presencia de vitamina E condiciona la calidad de la carne, ya que al ser incorporada en la dieta proporciona estabilidad oxidativa, retrasando los procesos oxidativos de los lípidos, que causan la aparición de olores y sabores a rancio, los cambios en el color y en la textura, y la disminución del valor nutritivo por la pérdida de PUFA (Lauzurica et al., 2005; Ripoll et al., 2011; Ponnampalam et al., 2012).

#### 2.5.2.1. Absorción de la vitamina E

La vitamina E es capaz de soportar la degradación en el rumen, pero una parte de ella se puede perder debido a su mala absorción (Chikunya et al., 2004). Las esterasas pancreáticas (Rigotti, 2007) cumplen un papel importante en la absorción de la vitamina E, ya que actúan sobre los esteres de tocoferol, que son normalmente no reactivos, hidrolizándolos en el intestino y transformándolos en activos; posteriormente es necesaria su solubilización micelar

(Muller et al., 1976). La vitamina E junto con los ácidos grasos, son emulsionados en micelas en el intestino, por acción de las sales biliares (Traber et al., 1990). Las micelas cumplen la función de aproximar la vitamina E a las células de la pared intestinal, permitiendo que la vitamina E atraviese la membrana celular.

La absorción de la vitamina E por los enterocitos ocurre por difusión pasiva (Stahl et al., 2002), donde la proteína SCARB1 actuaría como receptor de membrana (Reboul et al., 2006). Una vez que las proteínas de la membrana apical del intestino captan las moléculas de vitamina E, esta debe ser transportada por el citosol a través de lipoproteínas (Rigotti, 2007). En el interior del enterocito, la vitamina E es incorporada a los quilomicrones y transportada desde el intestino por la linfa intestinal (Debier y Larondelle, 2005). Una vez que alcanzan el torrente sanguíneo, los quilomicrones son hidrolizados por la lipoproteína lipasa, en la pared vascular, liberando la vitamina E, que se dirige a los tejidos periféricos. Otro grupo de quilomicrones va hacia el hígado, desde donde la vitamina E, es transportada a la sangre. La vitamina E es incorporada a las lipoproteínas VLDL para ser transportada en el plasma, al llegar a la pared de los vasos sanguíneos de los tejidos, por un proceso de hidrólisis, liberan la vitamina E y esta se incorpora a los tejidos extrahepáticos (Bender, 2003). La vitamina E es transportada desde el hígado hacia las células y los tejidos, por las lipoproteínas LDL y HDL principalmente (Bramley et al., 2000).

Ya que las lipoproteínas son los únicos transportadores de  $\alpha$ -tocoferol en el plasma, las concentraciones de  $\alpha$ -tocoferol se correlacionan directamente con los niveles de lípidos en el plasma (Debier y Larondelle, 2005). Sin embargo, la concentración de lipoproteínas en el plasma, no es el único factor del que depende la concentración de vitamina E.

La eficiencia de absorción de la vitamina E es relativamente baja, alrededor de un 30 a un 70% de la vitamina E ingerida no se absorbe y se excreta en las heces (Bramley et al., 2000). Además, la eficiencia de absorción de la vitamina E estaría influenciada por la cantidad y la calidad de la grasa que presenta la dieta, aumentando su absorción al incorporar grasa en la dieta (Debier y Larondelle, 2005). Por otra parte, al ser administrada en grandes cantidades, el hígado no acumula cantidades tóxicas, y una gran proporción de la vitamina E es excretada por la bilis (Debier y Larondelle, 2005).

La vida media en el plasma del  $\alpha$ -tocoferol de cordero es de aproximadamente 12 min y se deposita fundamentalmente en el hígado, en el tejido adiposo y en el músculo esquelético,

presentando estos tejidos el 90% del contenido total de  $\alpha$ -tocoferol corporal (Turner et al., 2002, Debier y Larondelle, 2005), y el tejido adiposo el que contiene las mayores concentraciones (Bramley et al., 2000). Nassu et al. (2011), han aportado resultados similares en ganado vacuno.

Los niveles de  $\alpha$ -tocoferol del músculo en ovino también varían según el tipo de fibras. Fry et al. (1993) encontraron que los músculos compuestos principalmente de fibras de Tipo I presentaban mayor proporción de  $\alpha$ -tocoferol en comparación con aquellos que estaban constituidos por fibras de Tipo II.

Una vez en los tejidos, la vitamina E se deposita en las membranas de las células musculares y en los depósitos grasos (Liu et al., 1995), eliminando los radicales libres en la membranas celulares y órgano-subcelulares, y por tanto, protegiendo a los PUFA de esas membranas (López-Bote et al., 2003). Además cumple un rol protector de la oxidación en otras moléculas, como es el caso del ADN, por tanto ayuda a prevenir otras enfermedades (Brennan et al., 2000).

La vitamina E rompe la cadena de propagación de la peroxidación lipídica, neutralizando los radicales peroxilo antes de que oxiden al sustrato, previene la formación de hidroperóxidos e inhibe las lipoperoxidasas (Buckley et al., 1995), enzimas responsables de la oxidación de las grasas. La vitamina E actúa cediendo su hidrógeno del grupo hidroxilo al radical peroxilo, obteniéndose de esta reacción dos productos, un radical  $\alpha$ -tocoferoxilo que es estable, por la presencia de un anillo aromático y un radical hidroperóxido orgánico (Bramley et al., 2000). López-Bote et al. (2003) señalan que la vitamina E como antioxidante, cumple la función de actuar sobre el radical peróxido, terminando la reacción oxidativa en cadena y protegiendo a la membrana celular de la oxidación de los ácidos PUFA.

Como se ha comentado anteriormente, la vitamina E al llevar a cabo su acción se forma un radical  $\alpha$ -tocoferoxilo que puede transformarse en  $\alpha$ -tocoferol de nuevo para poder continuar con su función, en este reciclaje pueden participar otros antioxidantes, como las vitaminas C y A, la coenzima Q (Pinelli-Saavedra et al., 2008) u otro reductor como es el caso de la enzima GPX. Esta enzima puede donar un electrón de hidrógeno reaccionando con el radical tocoferoxilo y retornando la vitamina E a su estado inicial, lo que permite continuar con su actividad de óxido-reductor (Mustacich et al., 2007).

La vitamina E mejora la estabilidad oxidativa *post mortem*, aumentando la estabilidad de las membranas celulares, impidiendo que el líquido sarcoplásmico se movilice, reduciendo de esta forma las pérdidas por goteo de la carne (Maiorano et al., 2007) y también aumentando la estabilidad del color de la carne, y de esta forma mejorando la calidad de la misma (Deaville et al., 2004).

Algunas de las funciones biológicas en las que participa la vitamina E son: prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas e inflamatorias (Vagni et al., 2011), actuar como modulador en el sistema inmune en animales (Finch y Turner, 1996), prevenir o retrasar enfermedades cardiovasculares y cáncer (D'Alessandro et al., 2012). En rumiantes, su carencia en la dieta, puede producir enfermedades como “el músculo blanco” (Hogue et al., 1962).

La concentración de vitamina E en los tejidos de los animales, se relaciona positivamente con la dosis y con la duración de la administración en la ración. De manera que se utiliza vitamina E en la dieta de los animales productores de carne, para conseguir en sus tejidos musculares la suficiente concentración de vitamina E, que les proteja de los procesos oxidativos (Daza et al., 2003; López-Bote et al., 2003).

La dosis optima de vitamina E, para lograr su depósito en cantidades suficiente en los tejidos, para evitar la oxidación de los lípidos, depende de la raza, del peso de sacrificio y del sistema de producción (Daza et al., 2003).

En ese sentido, López-Bote et al. (2001) al suplementar la dieta de corderos con diferentes dosis de  $\alpha$ -tocoferol (20, 270, 520 y 1020 mg/kg de concentrado) durante 6 semanas, observaron que al incrementar la vitamina E en la dieta aumentó la concentración de vitamina E en el músculo, informando que dosis entre 550 a 625 mg  $\alpha$ -tocoferol/kg de concentrado, lograrían concentraciones de 5,3 a 5,6 mg  $\alpha$ -tocoferol/kg en el músculo, capaces de retrasar los fenómenos oxidativos de los lípidos en la carne, aumentando la estabilidad de su color, en comparación con los corderos suplementados con la dosis bajas de vitamina E (20 mg/kg de concentrado).

En un estudio de Ripoll et al. (2013), suplementaron la dieta de corderos, en la etapa de finalización, con 500 mg de acetato de dl- $\alpha$ -tocoferol/kg de concentrado, evaluando la suplementación durante: 0 (grupo control), 10, 20 y 30 días antes del sacrificio. Estos autores

observaron que la suplementación de la dieta con vitamina E y la duración del período de suplementación afectaba los parámetros del color, y la oxidación de lípidos. Aquellos corderos suplementados con vitamina E, presentaron mayor estabilidad del color y menor oxidación de lípidos que el grupo control, siendo mayor esta mejora en los grupos que recibieron la vitamina E durante más tiempo.

En otro estudio también realizado en ovino, Macit et al. (2003) suplementaron con 45 mg de vitamina E por animal y día, durante 75 días. Encontraron que la carne de los corderos suplementados con vitamina E presentaba menor oxidación de lípidos a los 7 y 12 días de conservación en aerobiosis, bajo refrigeración (4 °C) y luz fluorescente, en comparación con las carnes de los corderos del grupo control.

Juárez et al. (2012), observaron que si alimentamos a los rumiantes con dietas altas en PUFA, es necesaria la suplementación con vitamina E, para reducir los procesos oxidativos de los lípidos, en las carnes que originan. Sin embargo para Kasapidou et al. (2012) el aumento de PUFA n3 en la carne, no necesito niveles adicionales de vitamina E para evitar los fenómenos oxidativos de los lípidos, encontrando solo un ligero descenso en los niveles de TBARS en la carne de los corderos alimentados con concentrado y suplementados con vitamina E.

La vitamina E también puede ser aplicada intramuscularmente, así en el estudio de Maiorano et al. (2007) en el que aplicaron a corderos dl- $\alpha$ -tocoferil intramuscularmente a una dosis de 150 IU por semana desde el destete al sacrificio a los 71 días (8 semanas de tratamiento), encontraron que la carne de los corderos que recibieron las inyecciones de vitamina E presentaron una reducción del 11% en las pérdidas por goteo, en comparación con la de los corderos no tratados. En otro estudio más reciente, Maiorano et al. (2016) estudiaron inyecciones intramusculares semanales de acetato de dl- $\alpha$ -tocoferil en una dosis de 1500 IU, durante 57 días. Estos autores observaron que la carne de los corderos que recibieron las inyecciones de vitamina E presentaron valores de índice de rojo más altos, es decir eran más rojas, y una mayor estabilidad frente a la oxidación de los lípidos que la carne de los corderos del grupo control, además estas carnes resultaron más jugosas y más tiernas en comparación con las carnes del grupo control.

### 2.5.3. Compuestos fenólicos

Se trata de un grupo de compuestos producto del metabolismo secundario de las plantas, de gran importancia fisiológica y morfológica en ellas. Pueden ser específicos de ciertos alimentos como las flavanonas en los cítricos o las isoflavonas en la soja. En el caso de la quercetina, puede estar presente en un gran número de plantas (frutas, verduras, cereales, leguminosas, té, vino, etc.). Otros como los derivados de ácidos hidroxicinámicos, como cafeico, ferúlico y sinápico, son los polifenoles mayoritarios de muchas frutas, hortalizas y alimentos derivados (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

Los compuestos fenólicos son un gran grupo de productos químicos bioactivos, que tienen diversas funciones biológicas. Los polifenoles como las fitoalexinas pueden actuar como agentes protectores frente a la acción de patógenos (Popa et al., 2008), pueden actuar también, como sustancias antinutricionales y antioxidantes, como sustancias atrayentes para los polinizadores, y como agentes protectores contra la luz ultravioleta (Naczki y Shahidi, 2006). Estas propiedades bioactivas hacen que estos compuestos cumplan un rol importante en el crecimiento y reproducción de las plantas, proporcionando una protección eficaz frente a patógenos y depredadores (Popa et al., 2002; Bravo, 1998). También intervienen en las propiedades organolépticas de las frutas y verduras (Alasalvar et al., 2001), en concreto contribuyen al aroma, la astringencia, y la coloración de flores, hortalizas y frutos (Waterhouse, 2002), y por tanto son importantes en su calidad. Así, las antiocianinas son pigmentos responsables de los tonos rojos, azules y violáceos característicos de muchas frutas (fresas, ciruelas, uvas, etc.), hortalizas (berenjena, lombarda, rábano, etc.) y del vino tinto, o los flavonoles, responsables de la tonalidad crema-amarillenta, especialmente de las partes externas de frutas y hortalizas (Tomás-Barberán et al., 2000). Algunos polifenoles presentan sabor amargo, como ciertas flavanonas de los cítricos o la oleuropeína de las aceitunas. Las proantocianidinas (taninos condensados) y los taninos hidrolizables, que dan astringencia a los frutos y algunos fenoles sencillos, como el eugenol en los plátanos, también tienen importancia en el aroma de otras frutas (Tomás-Barberán, 2003).

Sobre el contenido total de polifenoles influyen factores medioambientales como la exposición a la luz solar, precipitaciones, etc., y factores agronómicos (tipo de cultivo, grado de madurez, etc.) juegan un papel fundamental (Quiñones et al., 2012). La conservación también puede incidir en el contenido en polifenoles, pudiéndose formar sustancias

polimerizadas que afectan al color y a las características organolépticas de los alimentos. Sin embargo, diversos estudios han indicado que la conservación en frío, no afecta al contenido de polifenoles (Van der Sluis et al., 2001, Quiñones et al., 2012). Los métodos culinarios de preparación de los alimentos, también pueden afectar al contenido en polifenoles; así, en las frutas y verduras el contenido en polifenoles puede disminuir por el hecho de pelarlos, ya que los polifenoles a menudo están presentes en altas concentraciones, en las partes externas de los alimentos (Quiñones et al., 2012). Del mismo modo la cocción influye en el contenido en polifenoles de los alimentos, pudiendo disminuir el contenido original de polifenoles hasta en un 75% (Van der Sluis et al., 2001; Quiñones et al., 2012).

Cada especie vegetal presenta, un contenido cuantitativo y cualitativo de polifenoles característico. El cacao (*Theobroma cacao*), presenta un alto contenido en polifenoles, siendo rico en flavanoles, principalmente en forma de epicatequinas, catequinas y procianidinas, la uva (*Vitis vinifera*) rica en catequinas y procianidinas; el té (*Camelia sinensis*) rico en los flavanoles, fundamentalmente como derivados de galatos (Guadalupe et al., 2006; Quiñones et al., 2012).

Los compuestos polifenólicos se caracterizan por poseer un anillo aromático con al menos un grupo hidroxilo y una cadena lateral (Martínez-Valverde et al., 2000; Duthie et al., 2000). Ejercen su acción antioxidante a través de los anillos aromáticos y sus dobles enlaces conjugados. Las propiedades antioxidantes de los compuestos polifenólicos se conocen bien, jugando un papel vital en la estabilidad de los productos alimenticios, así como en los mecanismos de defensa antioxidante de los sistemas biológicos (Nijveldt et al., 2001).

#### 2.5.3.1. Clasificación de los compuestos fenólicos

Hay gran variedad de compuestos polifenólicos en las plantas (se conocen más de 8000) que incluyen grupos con estructuras simples, como los derivados simples de ácidos fenólicos, hasta los polímeros de ácidos fenólicos y flavonoides de elevada masa molecular, como los taninos hidrolizables y condensados (Tomás-Barberán, 2003; Balasundram et al., 2006). Se pueden clasificar en función del número de anillos fenólicos que tengan y de los elementos que presenten esos anillos (Quiñones et al., 2012). Los principales grupos de polifenoles son: flavonoides, ácidos fenólicos, alcoholes fenólicos, estilbenos y lignanos (D'Archivio et al., 2007).

Su biosíntesis como metabolitos secundarios de las plantas se realiza a través de dos rutas primarias: la ruta de ácido siquímico y la ruta de los poliacetatos (Robards et al., 1999). En la ruta del ácido siquímico, dependiente de la luz, se produce la síntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina), y de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos y derivados del fenilpropano). Mientras que en la ruta de los poliacetatos se producen las quinonas y las xantonas (Quiñones et al., 2012).

Los flavonoides son la subclase de polifenoles más abundante dentro del reino vegetal (se han identificado más de 4000 flavonoides en las plantas), con bajo peso molecular, un esqueleto difenilpirano, y están formados por dos anillos fenilo aromáticos (anillo A y B) unidos a través de un anillo de pirano heterociclo (anillo C). Se encuentran principalmente como glucósidos, pero también pueden estar en forma libre (agliconas flavonoides). Los flavonoides se dividen en 6 subclases, según el estado de oxidación del anillo central de pirano: flavonoles, flavonas, flavanonas (dihidroflavonas), isoflavonas, antocianinas y flavonoides (catequinas y proantocianidinas) (D'Archivio et al., 2007; Quiñones et al., 2012). Cada grupo presenta una gran diversidad de compuestos, diferenciándose entre ellos por el número y posición de los grupos hidroxilo, y por la presencia de diferentes grupos funcionales, como metilos, ácidos orgánicos, o azúcares.

Los flavonoles tienen un doble enlace entre C2 y C3, con un grupo hidroxilo en la posición C3. Fuentes importantes de flavonoles son: cebolla, col rizada, puerro, brócoli, arándanos, té y vino tinto (D'Archivio et al., 2007). La biosíntesis de flavonoles está estimulada por la luz solar, por lo que se acumulan en el tejido exterior, pudiendo existir diferencias en la concentración entre las frutas de un mismo árbol e incluso entre diferentes caras de una fruta, dependiendo de la exposición a la luz solar (Cortell y Kennedy, 2006).

Los flavanoles son una clase de flavonoides, que contienen una cadena de tres carbonos saturada con un grupo hidroxilo en el C3. Existen en forma de monómeros y polímeros (catequinas y proantocianidinas respectivamente). A diferencia de otras clases de flavonoides, los flavanoles no están glicosilados en los alimentos. Los principales flavanoles en los frutos son catequina y epicatequina, mientras que galocatequina, epigalocatequina, galato de epigalocatequina se han encontrado especialmente en el té. Las catequinas se encuentran en muchas frutas como albaricoques, cerezas, té verde, el chocolate y el vino tinto (D'Archivio et al., 2007).

Las flavonas, que tienen un doble enlace entre C2 y C3, son menos comunes, siendo las únicas fuentes importantes comestibles de flavonas el perejil y el apio (D'Archivio et al., 2007).

Las flavanonas se caracterizan por la presencia de una cadena de tres carbonos saturados y un átomo de oxígeno en el C4. Generalmente están glicosilados por un disacárido en C7. Se encuentran en altas concentraciones en los cítricos, en los tomates y en algunas plantas aromáticas como la menta (D'Archivio et al., 2007).

Las isoflavonas, con similitudes estructurales a los estrógenos, cuentan con grupos hidroxilo en las posiciones C7 y C4, y una molécula de estradiol. Pueden unirse a los receptores de estrógenos y se clasifican por tanto como fitoestrógenos y se encuentran casi exclusivamente en las plantas leguminosas (D'Archivio et al., 2007).

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua. Se producen principalmente como glucósidos. Las antocianinas están ampliamente distribuidas, encontrándose en el vino tinto, ciertas variedades de cereales y ciertas verduras (col, frijol, cebolla, rábano) y sobre todo en muchas frutas (D'Archivio et al., 2007).

Las proantocianidinas, también son conocidos como taninos condensados, son dímeros, oligómeros y polímeros de catequinas y epicatequina (Porter, 1989), también encontramos taninos hidrolizables que son derivados del ácido gálico o de su producto dímero de condensación, como el ácido hexahidroxi-difénico (Ignat et al., 2011). Los taninos son un grupo importante de compuestos polifenólicos que tienen diversos efectos sobre los sistemas biológicos ya que son posibles quelantes de iones metálicos, precipitantes de proteínas y antioxidantes biológicos. Debido a la variedad de funciones biológicas que los taninos pueden realizar y debido a la enorme variación estructural, ha sido difícil desarrollar modelos que permitan una predicción precisa de sus efectos en cualquier sistema (Hagerman, 2002).

Los ácidos fenólicos pueden estar presentes en las plantas en forma libre y unida, constituyendo alrededor de un tercio de los fenoles de la dieta (Robbins, 2003). Los ácidos fenólicos unidos pueden estar vinculadas a diversos componentes de la planta, a través de enlaces éster, éter o enlaces de acetal (Zadernowski et al., 2009). Los ácidos fenólicos consisten en dos subgrupos, los ácidos hidroxibenzoico (derivados del ácido benzoico) que tienen en común la estructura C6-C1 (p-hidroxibenzoico, protocatéquico, vanillico y

siríngico) y los ácidos hidroxicinámicos (derivados del ácido cinámico) son compuestos aromáticos con una cadena lineal de tres carbonos (C6-C3) (cafeico, ferúlico, sinápico, p-cumárico) (Bravo, 1998).

En los alcoholes fenólicos encontramos el tirosol (4-hidroxifeniletanol) y el hidroxitirosol (3,4 dihidroxifeniletanol), presentes principalmente en el aceite de oliva virgen extra (40,2 y 3,8 mg/kg, respectivamente) (Cabrini et al., 2001). La concentración de fenoles totales en el aceite de oliva virgen extra tiene un valor medio aproximado para el aceite de oliva comercial de 180 mg/kg (Owen et al., 2000). Esta concentración dependerá de la variedad, el clima, área de crecimiento, la latitud y la madurez de la aceituna (Boskou, 2000). El tirosol también forma parte de los vinos tintos y blancos y de la cerveza, mientras que el hidroxitirosol se puede encontrar en el vino tinto (D'Archivio et al., 2007).

Los estilbenos forman parte de la dieta humana en bajas cantidades, siendo el principal representante el resveratrol, que existe en dos formas isoméricas *cis* y *trans* (Delmas et al., 2006). Las plantas lo producen en respuesta a la acción de patógenos o a una variedad de condiciones de estrés (Bavaresco, 2003). Se ha detectado en más de 70 especies de plantas, incluidas las uvas, bayas y cacahuets.

Los lignanos son producidos por dimerización oxidativa de dos unidades de fenilpropano. Están presentes principalmente en la naturaleza en su forma libre, mientras que sus derivados glicósidos se encuentran en menor proporción (Ignat et al., 2011).

#### 2.5.3.2. Acciones biológicas de los compuestos fenólicos

La estructura química de los compuestos polifenólicos, les confiere las propiedades biológicas, dependiendo la actividad que presentan del tipo de compuesto, de su hidrofobicidad, del número grupos hidroxilos, de la presencia de dobles enlaces y de la longitud de la cadena alifática (Helander et al., 1998; Parr y Bolwell, 2000); por ello, algunos compuestos polifenólicos pueden llegar a presentar mayor actividad antioxidante que algunos antioxidantes sintéticos (Sánchez-Escalante et al., 2003).

Los compuestos fenólicos son considerados antioxidantes primarios y entre sus funciones antioxidantes encontramos la de captar radicales libres, ceder moléculas de hidrógeno, captar moléculas superóxido y quelar metales de transición, también pueden inhibir las enzimas xantina-oxidasa y proteín-quinasa, responsables de la producción de moléculas superóxidos

(Urquiaga y Leighton, 2000). El grupo hidroxilo en el anillo estructural, es el responsable de las propiedades antioxidantes que presentan estos compuestos, ya que capta los radicales libres transformándolos en compuestos menos reactivos (Sang et al., 2002).

Los polifenoles pueden presentar diferentes funciones biológicas como la actividad estrogénica (fitoestrógenos) de las isoflavonas, los lignanos y dentro de los estilbenos el resveratrol. Mientras que los taninos, tienen la capacidad de fijar metales y proteínas, afectando a la biodisponibilidad de éstos y originando algunos efectos secundarios como antimicrobianos (Tomás-Barberán et al., 2000; Tomás-Barberán y Espín, 2001). También los compuestos polifenólicos son importantes en la protección contra alteraciones patológicas, tales como la arterosclerosis, la disfunción cerebral, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, y cáncer (Gordon, 1996). Otra propiedad descrita de los polifenoles es la de conservante de alimentos (Valenzuela et al., 1992).

El metabolismo de los compuestos fenólicos se realiza a través de una serie de procesos comunes para todos los polifenoles, que implican reacciones de conjugación y reconjugación (Scalbert y Williamson, 2000).

#### 2.5.3.3. Absorción de los compuestos fenólicos

En los alimentos encontramos a los polifenoles formando ésteres, glicósidos o polímeros, que resisten la hidrólisis ácida en el estómago y por lo tanto llegan al intestino intactos, pudiendo ser absorbidos directamente (D'Archivio et al., 2007). En el intestino las enzimas tales como la lactasa-florizina hidrolasa y  $\beta$ -glucosidasa, o bien la microflora del colon, hidrolizan los polifenoles, transformándolos en ácidos aromáticos simples, al romper los anillos aromáticos de los compuestos fenólicos (Nemeth et al., 2003). Estos ácidos aromáticos simples presentan menor biodisponibilidad y menor actividad (Quiñones et al., 2012).

Los polifenoles son conjugados en el hígado y el intestino por reacciones de metilación, sulfatación, glucuronidación o sus combinaciones y son distribuidos a los tejidos y órganos. La conjugación corresponde a un proceso de desintoxicación metabólica, común a muchos xenobióticos, facilitando su eliminación biliar y urinaria mediante el aumento de su hidrofilicidad (D'Archivio et al., 2007). A causa de estas reacciones, los polifenoles que se encuentran en el plasma y en los tejidos son muy distintos de los polifenoles originales de los

alimentos, dificultando la identificación de los metabolitos y la evaluación de su actividad biológica (Natsume et al., 2003; Quiñones et al., 2012).

Los metabolitos circulantes se unen principalmente a la albúmina, para ser transportados en el plasma a los distintos tejidos y órganos. La estructura química de los polifenoles determina su afinidad hacia la albúmina y por tanto la presencia del polifenol en las células y tejidos (Boglietti et al., 2010; Quiñones et al., 2012).

La concentración de polifenoles en el plasma depende de su fuente de origen y de la estructura química, siendo necesario un consumo frecuente para mantener las concentraciones en el plasma a lo largo del tiempo (Van het Hof et al., 1999; Quiñones et al., 2012).

Los polifenoles se localizan principalmente en los tejidos donde se han metabolizado como son el hepático, estomacal, intestinal, colon y riñón (Blumberg et al., 2006; Quiñones et al., 2012) y también en tejidos dianas específicos, como el tejido pulmonar, el pancreático, el cerebral, el cardíaco y el esplénico (Hong et al., 2002; Parkar et al., 2008; Quiñones et al., 2012).

Los compuestos polifenólicos se eliminan principalmente por orina y bilis. Los polifenoles que son eliminados por la bilis, pueden reaccionar en el duodeno con las enzimas bacterianas, especialmente la  $\beta$ -glucuronidasa, y luego pueden ser reabsorbidos, prolongando la presencia de los compuestos fenólicos en el organismo (Scalbert y Williamson, 2000).

#### 2.5.3.4. Aplicación de los compuestos fenólicos

Actualmente existe gran interés en la extracción de polifenoles a partir de los residuos de las industrias agrícolas. Estos subproductos, son los desechos resultantes de la industria de procesado de frutas y verduras que aún contienen altas concentraciones de compuestos polifenólicos y son de bajo coste (Ignat et al., 2011). Los residuos de la elaboración de zumos de bayas y las cáscaras de desecho son una gran fuente de polifenoles (Larrosa et al., 2002; Lapornik et al., 2005). En relación a los residuos de la industria de los cítricos, las investigaciones se han centrado en la cáscara, ya que es donde se concentran las mayores cantidades de polifenoles (Balasundram et al., 2006). Así Sreenath et al. (1995) estudiaron los subproductos de cítricos en la producción de bebidas, que fueron empleados como colorantes naturales y observaron que tras dos meses de conservación, las bebidas elaboradas con los subproductos de los cítricos presentaron mejor sabor en comparación al grupo control,

aportando estabilidad al producto. Mientras que Larrosa et al. (2002) investigaron los subproductos resultantes de la transformación de la alcachofa, la coliflor, la zanahoria, el apio y la cebolla, utilizándolos como fuentes naturales de compuestos polifenólicos, para la elaboración de jugo de tomate enriquecido con polifenoles. Como resultado observaron que la actividad antioxidante del jugo de tomate con polifenoles fue significativamente mayor que el jugo control.

En este sentido, se han realizado diversas investigaciones empleando este tipo de compuestos como antioxidantes en la carne y sus derivados. Se ha estudiado por ejemplo el extracto de semilla de uva añadida a la carne picada de vacuno (Ahn et al., 2002), observándose una mejora significativa de la estabilidad oxidativa de la carne cocinada en comparación con la carne control. También se han utilizado los taninos de quebracho suplementados en la dieta de corderos apreciándose una reducción de la decoloración de su carne durante su conservación (Luciano et al. 2009). El romero (*Rosmarinus officinalis L.*), también ha sido utilizado por sus propiedades bioactivas atribuidas a los compuestos fenólicos presentes en la planta, y ha mostrado efectos beneficiosos sobre la producción de carne de pavo y cordero cuando se ha incluido en la dieta de los animales (Botsoglou et al., 2007; Nieto et al., 2010a).

Los residuos de la producción de aceite de oliva son una buena fuente de polifenoles. La extracción de aceite de oliva puede ser llevada a cabo por centrifugación en tres fases o en dos fases, siendo las aguas residuales generadas perjudiciales para el medio ambiente (Dermeche et al., 2013). El contenido fenólico del agua residual de la extracción del aceite de oliva fluctúa entre 1,0% y 1,8% (Visioli y Galli, 2003) esta variación se debe a las diferentes técnicas utilizadas durante su procesamiento. Los principales compuestos polifenólicos en los residuos de la extracción del aceite de oliva incluyen hidroxitirosol, tirosol, y la oleuropeína (Obied et al., 2005). Además, las hojas de olivo que son otro subproducto de la industria de la aceituna, han sido investigadas como fuente de compuestos polifenólicos (Benavente-García et al., 2000).

#### 2.5.3.5. Compuestos fenólicos de la oliva

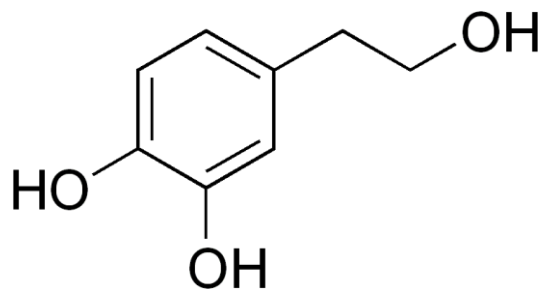
El principal compuesto fenólico presente en la aceituna es la oleuropeína, junto con el hidroxitirosol (2-(3',4'-dihidroxifenil) etanol) (Panizzi et al., 1960). En el olivo también se encuentran otros compuestos polifenólicos tales como el tirosol y sus derivados y, en menor proporción, otros como los ácidos cinámico y sus derivados: ácidos ferúlico, p-cumárico, o-

cumárico, cafeico y sinapínico; derivados del ácido benzoico: ácidos gálico, protocatéuico, p-hidroxibenzoico, vanílico, sirínico, 3,4,5-trimetoxibenzoico y gentísico; así como derivados del ácido fenilacético: ácidos p-hidroxifenilacético y homovanílico. También se han detectado flavonoides, fundamentalmente la apigenina y luteolina y, en menor proporción, la apigenina-7-glucósido y luteolina-7- glucósido, vanillina y otros componentes polares de carácter no fenólico, como los ácidos quínico y siquímico (Gallardo, 2014).

Alrededor del 30 % de la fracción insaponificable del aceite de oliva virgen la componen tirosol, hidroxitirosol y sus secoiridoides (Fitó et al., 2007). A pesar de factores tales como la variedad, la madurez del fruto de oliva, el procesamiento del aceite de oliva o incluso factores agronómicos, que determinan fuertemente la cantidad final de los compuestos fenólicos en el aceite de oliva virgen, se han cuantificado concentraciones entre 100 y 600 mg/kg, de los cuales aproximadamente la mitad de esta cantidad corresponde a hidroxitirosol y sus derivados (Brenes et al., 1999; Trípoli et al., 2005).

El hidroxitirosol (figura 2.1) proviene de la hidrólisis de la oleuropeína, que se origina durante la maduración de las aceitunas en el árbol, almacenamiento del aceite o preparación de las aceitunas de mesa. Estos procesos producen oleuropeína aglicona, hidroxitirosol y ácido elenoico, siendo estos los responsables en parte de los distintos y variados aromas y sabores del aceite y de la aceituna (Granados-Principal et al., 2010).

**Figura 2.1.** Estructura química del hidroxitirosol.



El hidroxitirosol es una molécula de carácter polar y por tanto es soluble en solventes acuosos, y escasamente liposoluble. Este hecho provoca que durante la extracción mecánica del aceite de oliva la mayor porción de este compuesto se encuentre en la fase acuosa

(alpechín) y en menor proporción en el aceite. La fórmula molecular del hidroxitirosol es  $C_8H_{10}O_3$  y su peso molecular es de 154,166 g/mol. (Gil, 2015).

El hidroxitirosol presenta la capacidad de aceptar electrones desapareados de las especies reactivas al oxígeno, evitando su formación y sus efectos oxidativos. Asimismo, actuaría secuestrando moléculas prooxidantes o especies reactivas como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el ácido hipocloroso, evitando su formación por parte de iones metálicos como el hierro y el cobre (Driss y El-Benna, 2010).

Desde hace unos años se ha convertido en objeto de numerosos estudios ya que es un compuesto que ha demostrado presentar un alto poder antioxidante, desempeñando un papel importante en la protección de las células de las especies reactivas del oxígeno (Driss y El-Benna, 2010). Además de esta actividad frenadora del estrés oxidativo y neutralización de radicales libres, posee propiedades biológicas como antiagregante plaquetario y antioxidante de las lipoproteínas LDL, ambas acciones contribuyen a disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, inhibidor de las lipooxigenasas del proceso inflamatorio, y con capacidad de producir apoptosis en células, provocando así la muerte de células malignas o de bacterias patógenas (reduce la actividad microbiana) (De la Puerta et al., 2001; Raederstorff, 2010). Por estas propiedades, el hidroxitirosol es de interés desde un punto de vista biológico y farmacéutico para su uso en cosmética y en medicina, así como ingredientes en productos nutracéuticos y alimentos antioxidantes (Mirabella et al., 2014).

La posibilidad de utilizar el hidroxitirosol como antioxidante natural en la industria cárnica puede ser de gran interés además de responder a las necesidades de los consumidores por compuestos naturales (Devcich et al., 2007). La capacidad del hidroxitirosol para inhibir la oxidación en alimentos ricos en PUFA n3 se ha demostrado en algunos estudios en pescado y derivados (Medina et al., 2009; Pazos et al., 2008). También se ha estudiado su efecto en la carne picada precocinada de cerdo y vacuno observando una inhibición de la oxidación lipídica dependiente de la dosis utilizada del extracto obtenido de los residuos de la extracción del aceite de oliva, siendo mayor el efecto antioxidante a dosis más alta y en la carne de vacuno en comparación con la carne de cerdo (DeJong y Lanari, 2009). Recientemente, Muíño et al. (2016) evaluaron el efecto de la adición de hidroxitirosol (extracto procedente de residuos de la industria del aceite de oliva) a diferentes dosis (100, 200 y 400 mg GAE/kg de carne) en hamburguesas de carne de cordero enriquecidas con PUFA n3 (aceite de pescado

desodorizado) y conservadas en atmósfera modificada, observando una menor oxidación de lípidos y menor decoloración de la carne, después de 6 días de conservación, en los grupos suplementados con dicho extracto en comparación con el grupo control, sin adición del extracto.

***MATERIAL Y MÉTODOS***

---

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1. ANIMALES, DIETAS Y CEBO

Para la realización del estudio se utilizaron 40 corderos machos de raza Manchega destetados, homogéneos en edad y sistema de crianza. Fueron comprados al destete con un peso vivo medio de 12 kg, habiendo recibido previamente un pienso estándar de iniciación desde los 15 días de vida. Los corderos se trasladaron al cebadero de la granja docente de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid donde permanecieron en grupo 4 días para adaptarse al nuevo ambiente, recibiendo el mismo pienso de iniciación *ad libitum* (figura 3.1).

Se inició el período de cebo experimental con un peso vivo inicial (PVI) de  $12,6 \pm 0,45$  kg, asignándose a los animales al azar a uno de las cinco dietas descritas a continuación (n=8):

**Dieta 1 (GC):** El grupo control fue alimentado con una dieta basal, rica en ácidos grasos n-3, utilizando lino extrusado (6%) (Pinallet, SA, Cardona, España) y aceite de pescado desodorizado (1%) (AFANSA, SA., Vigo, España). En la Tabla 3.1 figuran los ingredientes y la composición química de la dieta basal.

**Dieta 2 (G150):** Dieta basal suplementada con 1.500 ppm de extracto de aceituna rico en polifenoles (Hytolive®, Gerónimo Nature Oil, SA., GENOSA, Málaga, España).

**Dieta 3 (G300):** Dieta basal suplementada con 3.000 ppm de extracto de aceituna rico en polifenoles (Hytolive®, Gerónimo Nature Oil, SA., GENOSA, Málaga, España).

**Dieta 4 (GVE):** Dieta basal suplementada con 300 ppm de acetato de dl- $\alpha$ -tocoferol (vitamina E, DSM Nutritional Products Iberia SA., Alcalá de Henares, España).

**Dieta 5 (GMIX):** Dieta basal suplementada con 300 ppm de acetato de dl- $\alpha$ -tocoferol (vitamina E, DSM Nutritional Products Iberia SA., Alcalá de Henares, España) y con 1.500 ppm de extracto de aceituna rico en polifenoles (Hytolive®, Gerónimo Nature Oil, SA., GENOSA, Málaga, España).

El extracto de aceituna rico en polifenoles, Hytolive®, se trata de un producto procedente del residuo de la producción del aceite de oliva, con una riqueza en polifenoles estimada de 348,2

mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo. Este producto está compuesto fundamentalmente de hidroxitirosol 10,5% y tirosol 1,6%, y maltodextrinas 40-60% como agentes antiapelmazantes.

**Tabla 3.1.** Ingredientes y composición química de la dieta basal.

<b>Ingredientes (g/kg)</b>	
Harina de maíz	194
Cebada	340
Trigo	182
Harina de soja	146
Harina de girasol	38
Lino extrusado	60
Aceite de pescado desodorizado	10
Sal	5
Carbonato cálcico	20
Bicarbonato sódico	2
Premezcla vitaminas/minerales <sup>1</sup>	3
<b>Composición química (g/kg materia seca)</b>	
Materia seca	902
Proteína bruta	166
Grasa bruta	52,6
Fibra bruta	44,8
Cenizas	55,5
<b>Composición en ácidos grasos (%)</b>	
C14:0	0,81
C16:0	15,5
C18:0	3,41
C18:1	18,5
C18:2n6	34,7
C18:3n3	17,6
C20:5n3	0,97
C22:5n3	0,23
C22:6n3	3,09

<sup>1</sup> Vitaminas y minerales por gramo de premezcla: 1650 UI retinol, 330 UI colecalciferol, 5 mg dl- $\alpha$ -tocoferol, 0,6 mg riboflavina, 2 mg ácido ascórbico, 4 mg niacina, 0,002 mg cianocobalamina, 0,18 mg vitamina K, 12,6 mg Mn, 22 mg Zn, 1 mg Cu, 0,12 mg I, 4,2 mg Fe, 0,2 mg Co, 0,03 mg Se, 50 mg Mg y 69 mg S.

**Figura 3.1.** Corderos a la llegada al cebadero durante la adaptación a las instalaciones.



Durante el período de cebo experimental los corderos se alojaron en boxes individuales de 1 m<sup>2</sup> de superficie, que les permitía verse y oírse de forma permanente. Cada box contaba con bebedero, comedero y cama de paja de cereal (figura 3.2). A los corderos se les adaptó del pienso estándar de iniciación al pienso experimental de forma progresiva durante 8 días. Tanto en la fase de adaptación como en la fase experimental los animales dispusieron de pienso experimental y agua *ad libitum* y de paja de cereales de buena calidad que fue renovada diariamente, aportándose al 10% en relación a la valoración hecha del consumo medio de pienso, con el fin de prevenir trastornos digestivos. Durante toda la fase experimental de cebo, los corderos fueron pesados semanalmente con una balanza (EziWeight 2, Tru-Test Ltd. Auckland, New Zealand). El cebo duró una media de  $39,8 \pm 1,6$  días. Cuando los corderos alcanzaron un peso vivo de  $24 \pm 0,5$  kg, peso vivo sacrificio (PVS), fueron transportados a un matadero comercial. La ganancia media diaria (GMD) expresada en g/día, fue calculada como la diferencia entre el PVS y el PVI, expresado en gramos, dividida por la duración del cebo, según la siguiente fórmula:

$$GMD = \frac{PVS - PVI}{\text{duración del cebo}}$$

**Figura 3.2.** Corderos en periodo de cebo.



### 3.2. SACRIFICIO Y MEDIDAS SOBRE LA CANAL

El manejo de los corderos en el matadero y el sacrificio se realizaron según las especificaciones de la UE, reguladas por el Reglamento (CE) n° 1099/2009 del 1 de enero de 2013 y por el Real Decreto 37/2014, de 24 de enero, que incluyen aspectos relativos a la protección de los animales en el momento del sacrificio.

Después del sacrificio, se obtuvo el peso de la canal caliente (PCC). Transcurrido un periodo de refrigeración de 24 h a 4°C, se volvieron a pesar las canales obteniendo el peso de la canal fría (PCF). Con estos datos se calcularon las pérdidas por refrigeración (PR) y el rendimiento a la canal (RC).

$$PR = \frac{PCC - PCF}{PCC} \times 100$$

$$RC = \frac{PCF}{PVS} \times 100$$

A continuación, las canales se transportaron en refrigeración (2 °C) a la planta piloto del INIA (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria) para continuar con su estudio y procesado.

Se realizó la valoración subjetiva del engrasamiento de la canal mediante una escala basada en cuatro puntos con el 1 como valor mínimo y el 4 como valor máximo (Ruiz de Huidobro et al., 2005), siguiendo la valoración para canales ligeras de menos de 13 kg (Reglamento (CE) n° 1278/94).

El pH se midió a las 0 horas (pH inicial) y a las 24 horas *post-mortem* (pH final) en el músculo *Longissimus dorsi* (LD) a nivel de la inserción de la costilla T13, y en el *Semitendinosus* (ST), de la media canal izquierda utilizando un pHmetro portátil (Hanna HI 9025 Instruments S.L., España), con electrodo de penetración y sonda de temperatura. Se realizaron tres repeticiones para cada medida. Antes de las medidas se procedía al calibrado del equipo con tampones de pH 4 y pH 7.

### 3.3. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE CARNE, ENVASADO Y CONSERVACIÓN

Las canales se dividieron en dos mitades, que se despiezaron y los costillares de ambas medias canales se chuletearon en porciones de 2 cm de espesor (Figura 3.3).

**Figura 3.3.** Chuletas del costillar cortadas para su distribución a los distintos tiempos de conservación y tipo de análisis.



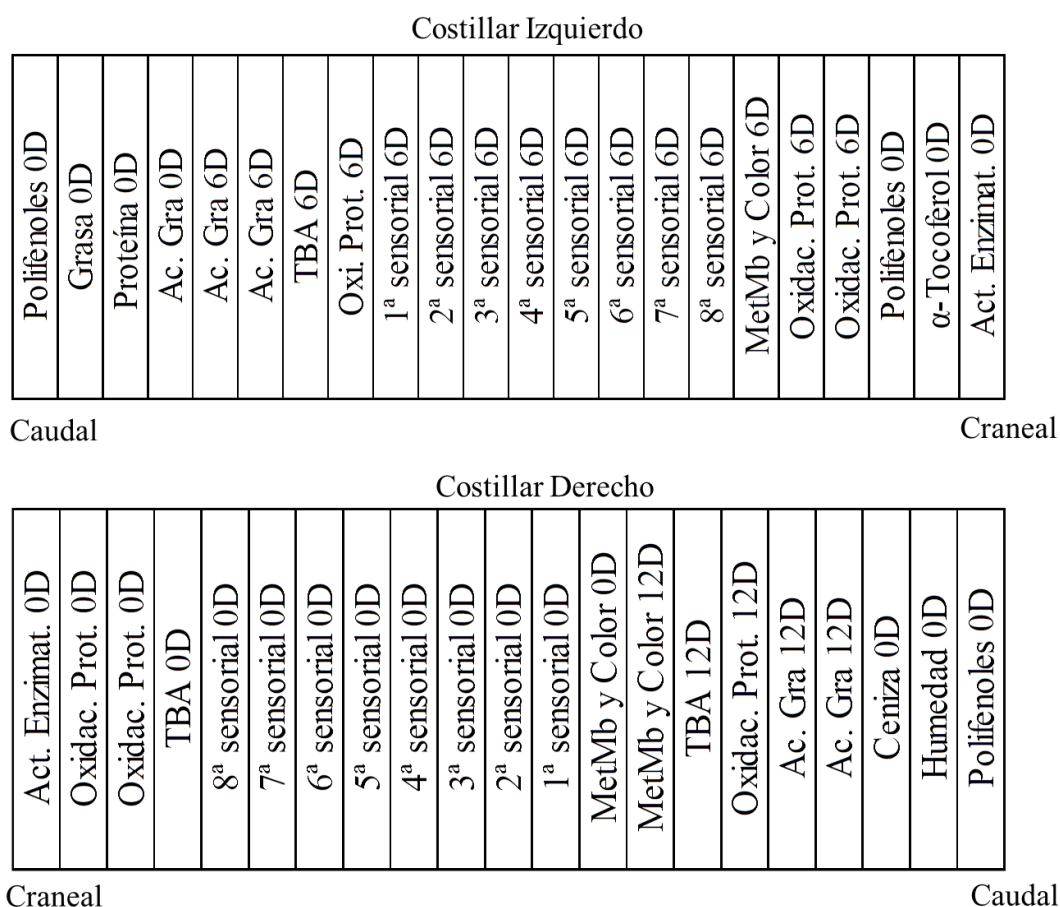
Las chuletas de lomo se asignaron aleatoriamente a uno de los periodos de conservación: 0, 6 y 12 días. Las chuletas del periodo de 0 días de conservación (tiempo inicial) fueron envasadas directamente al vacío utilizando una máquina de envasado (EV-15-1-CD-SC, Tecnotrip S.A., Barcelona, España) en bolsas de poliéster metálico (PET/MET+PE, Sacoliva

SL<sup>®</sup>, Barcelona, España) de baja permeabilidad al O<sub>2</sub> (<1,5 cc/m<sup>2</sup>/24 h) y baja tasa de transmisión de vapor de agua (<1,5 mg/m<sup>2</sup>/24 h) y se congelaron a -20°C hasta su análisis.

Las chuletas del costillar asignadas a los períodos de conservación de 6 y de 12 días, se envasaron en bolsas de poliamida/polietileno (50/100) (PA/PE, Sacoliva S.L.<sup>®</sup>, S.A., Barcelona, España) de 150 µm de espesor, con baja permeabilidad a los gases (18 cc/m<sup>2</sup>/24h de O<sub>2</sub> a 23°C y 55 cc/m<sup>2</sup>/24h de CO<sub>2</sub> a 23°C) y baja tasa de transmisión de vapor de agua (1,8 g/m<sup>2</sup>/ 24h a 23°C y 85% humedad relativa) bajo atmósfera modificada (MAP: 70% O<sub>2</sub>/30% CO<sub>2</sub>) (EAP 20, Carbueros Metálicos S.A., Barcelona, España) y se almacenaron en refrigeración a 4°C durante 6 ó 12 días. Después del período de conservación, fueron envasadas al vacío, como las muestras destinadas a tiempo 0 días de conservación y se congelaron a -20 °C hasta su posterior análisis. En la figura 3.4, se presenta el esquema del muestreo que se llevó a cabo con las chuletas de ambos costillares de cada animal.

Los análisis de grasa, ceniza, proteína, polifenoles totales, α-tocoferol y ácidos grasos se realizaron con carne liofilizada, para ello, transcurrido el periodo de conservación, se disecciono el músculo *Longissimus dorsi* (LD), de las chuletas asignadas, que después de eliminar fascias y grasa subcutánea e intramuscular se llevaron a congelación, liofilizándose en un liofilizador Cryodos-Lyoalfa 50 (Telstar S.A., Madrid, España). Seguidamente, las muestras que no se analizaron el día de la liofilización, se guardaron en botes de plástico, manteniéndose en congelación.

**Figura 3.4.** Esquema de distribución de las chuletas de ambos costillares para los diferentes análisis realizados.



### 3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS REALIZADOS EN LA CARNE

#### 3.4.1. Determinación de la grasa

La grasa de la carne se determinó cuantitativamente por extracción directa, mediante tratamiento ácido y extracción con solvente lipófilo (Método descrito en la norma ISO R-1443, Métodos oficiales de análisis de productos cárnicos, B.O.E. 29/8/79).

Se pesaron por duplicado 2,5 g de cada una de las muestras liofilizadas ( $M_0$ ), en un matraz Erlenmeyer. Seguidamente, se añadieron 50 ml de ácido clorhídrico 4 N (Panreac, Barcelona, España), se cubrió la boca del Erlenmeyer con un vidrio de reloj y se sometió la mezcla a ebullición suave en baño de arena durante una hora. La mezcla resultante se dejó enfriar a temperatura ambiente y se filtró. El residuo y el filtro se lavaron cuidadosamente con agua

desionizada, hasta que el agua de lavado no dio reacción ácida (comprobándose con papel tornasol de pH). Además, se verificó visualmente que en las aguas filtradas no existía materia grasa.

Se dejó secar el filtro y su contenido, toda la noche a temperatura ambiente y al día siguiente, se colocaron en un cartucho de extracción y éste en un vaso de precipitado, se secaron en estufa a  $103 \pm 3^\circ\text{C}$  (2-3 horas) y se enfriaron hasta temperatura ambiente en un desecador. A continuación, en un vaso de extracción, previamente pesado, ( $M_1$ ) se adicionaron 150 ml de éter de petróleo (Panreac, Barcelona, España) y, mediante un soporte, se pusieron el cartucho de extracción con el residuo y el papel de filtro. El vaso de extracción se llevó al equipo Soxtherm (SOXTHERM®, Trade Raypa®, modelo: SX-6 V: 230; W: 1500, C°: 200; 50/60HZ, Barcelona, España) en el que la muestra (residuo del filtro colocado en el cartucho de extracción) se lavo varias veces, con éter de petróleo.

Las extracciones se realizaron en cuatro etapas, manteniendo la placa calefactora a una temperatura adecuada, para conseguir la ebullición del éter de petróleo:

- **1ª Etapa:** Lavados, con recirculación de éter de petróleo, durante 30 minutos.
- **2ª Etapa:** Recuperación del éter en un calderín, hasta alcanzar un nivel aproximado de 1 cm por debajo del cartucho de extracción.
- **3ª Etapa:** Nuevos lavados con recirculación durante, al menos, 30 minutos.
- **4ª Etapa:** Recuperación del resto de éter.

Una vez terminada la extracción, se evaporó el resto del disolvente del vaso de extracción y se secó en estufa media hora a  $103 \pm 3^\circ\text{C}$ , y se enfrió a temperatura ambiente en un desecador. Una vez frío, se pesó el vaso con la grasa ( $M_2$ ). El contenido de grasa se expresó en porcentaje (m/m):

$$\text{Grasa (\%)} = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \times 100$$

Siendo:

$M_0$  = peso de la muestra (g).

$M_1$  = peso del vaso de extracción (g).

$M_2$  = peso del vaso de extracción con la grasa (g).

Para expresar el porcentaje de grasa en carne fresca, se tuvo en cuenta la pérdida de peso de la muestras durante la liofilización.

#### 3.4.2. Determinación de la proteína

La proteína de la carne se determinó por duplicado a partir del contenido en nitrógeno, siguiendo el método Kjeldahl descrito en la norma ISO R-937 (Métodos Oficiales de Análisis de Productos Cárnicos, B.O.E. 29/8/79). Para ello se pesaron 0,5 g de muestra liofilizada en tubos de digestión, incorporando dos pastillas de catalizador (Panreac, Barcelona, España) y 3-4 perlas de vidrio. Para la digestión se añadieron 25 ml de ácido sulfúrico (Panreac, Barcelona, España) concentrado, limpiando las paredes. Los tubos de digestión se colocaron en el digestor 3 h, y se dejaron enfriar. Una vez fríos, a cada tubo se agregaron 3 gotas de fenolftaleína (Panreac, Barcelona, España) y 25 ml de agua destilada y se llevaron al destilador, donde se fue añadiendo hidróxido sódico al 35%, (Panreac, Barcelona, España) lentamente, hasta que el color viró a rosa. Se destiló en un Erlenmeyer que contenía 80 ml de ácido bórico al 4% (Panreac, Barcelona, España) y 3 gotas de solución rojo de metilo (Panreac, Barcelona, España) con azul de metileno (Panreac, Barcelona, España), hasta obtener un volumen de 200 ml. La valoración se realizó en el destilado del Erlenmeyer con ácido clorhídrico 0,1 N.

El nitrógeno expresado en porcentaje (m/m), se determinó según la siguiente ecuación:

$$\text{Nitrógeno (\%)} = 1,4 \times N_{HCl} \times \frac{V_1 - V_2}{m_1} \times 100$$

Siendo:

$m_1$  = masa de muestra (g).

$V_1$  = volumen de ácido clorhídrico gastado en la valoración de la muestra (ml).

$V_2$  = volumen de ácido clorhídrico gastado en la valoración del blanco (ml).

$N_{HCl}$  = normalidad del ácido clorhídrico (mol/l).

Factor 1,4 = 14 x (100/1000); donde 14 es el peso atómico del nitrógeno, la división por mil proviene de expresar los volúmenes en ml y la multiplicación por cien permite expresar el contenido de nitrógeno en porcentaje.

El contenido de proteína de la carne, se obtuvo aplicando el siguiente factor:

$$\text{Proteína (\%)} = 6,25 \times \text{Nitrógeno (\%)}$$

Factor 6,25: Factor de conversión en función del origen de la proteína (carne).

Para expresar el porcentaje de proteína en carne fresca, se tuvo en cuenta la pérdida de peso de la muestras durante la liofilización.

#### 3.4.3. Determinación de las cenizas

Las cenizas se determinaron por duplicado, siguiendo el método descrito en la norma ISO R-936 (Métodos Oficiales de Análisis de Productos Cárnicos, B.O.E. 29/8/79). Para ello se pesó un gramo de muestra de carne liofilizada y se llevó a incineración en un horno a 550 °C para luego pesar la masa del residuo.

El contenido en cenizas, expresado en porcentaje se calculó como:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{\text{Peso de las cenizas (g)}}{\text{Peso de la muestra seca (g)}} \times 100$$

Para expresar el porcentaje de cenizas en carne fresca se tuvo en cuenta la pérdida de peso de la muestras durante la liofilización.

#### 3.4.4. Determinación de la humedad

Su determinación se realizó por duplicado, mediante el método de secado, descrito en la norma ISO R-1442 (Métodos Oficiales de Análisis de Productos Cárnicos, B.O.E. 29/8/79), en el que la cantidad de agua perdida se calcula, como la diferencia de peso de la muestra antes y después de un proceso de secado en estufa.

Para ello se pesaron 5 g de muestra, en un crisol con arena de mar (Panreac, Barcelona, España) de peso conocido, se añadieron 5 ml de etanol (Panreac, Barcelona, España) y se mezclaron. Posteriormente, se dejó al aire en una bandeja, con agua caliente para evaporar todo el etanol y cuando se comprobó que no olía a etanol, se introdujo en estufa a 103°C durante 24 h, momento en el cual se sacó de la estufa y se dejó enfriar en un desecador. Se

pesó el crisol con la muestra ya desecada, obteniendo una diferencia de peso proporcional a la pérdida de agua.

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{PC_1 - PC_0}{M} \times 100$$

Siendo:

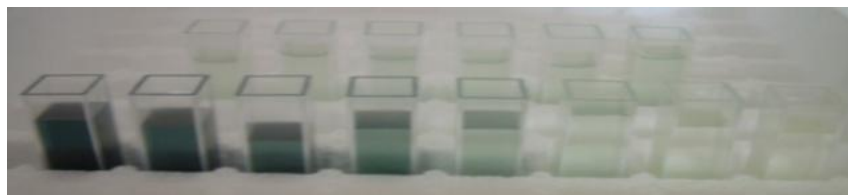
M= peso de la muestra.

PC<sub>0</sub> = peso del crisol después del secado.

PC<sub>1</sub> = peso del crisol con la varilla y la arena y la muestra de carne.

#### 3.4.5. Determinación de polifenoles totales

Se valoró el contenido en polifenoles totales de las muestras de carne y de hígado (previamente liofilizadas y congeladas). Para las muestras de carne (día 0) y de hígado se determinaron los compuestos fenólicos totales por triplicado con un espectrofotómetro de rayos UVA-Visible (Helio Gamma, Thermo Electron Corporation, Waltham, EE.UU.), siguiendo el método descrito por Singleton y Rossi (1965) con algunas modificaciones. Para ello, se pesó un gramo de carne y 0,5 gramos de hígado en tubos desechables de 50 ml con tapón de rosca a los que se añadieron 10 ml de solución acuosa de metanol (50/50, v/v) (Panreac, Barcelona, España), se agitó en agitador orbital durante 3 horas a temperatura ambiente, posteriormente se dejó en reposo 24 horas en refrigeración a 4 °C. A continuación, las muestras se centrifugaron a 9.000 rpm (centrífuga Hermle EZ 323K, Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania) 10 min. Se tomaron 100 µl del sobrenadante en tubos de 10 ml con tapón de rosca, a los que se añadieron 2,25 ml de agua destilada, 1 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido con agua destilada 1:4 v/v) (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.) y 0,75 ml de solución de bicarbonato de sodio (70 g/l en agua destilada, w/v) (Panreac, Barcelona, España). Después de 8 min se añadió a cada mezcla 900 µl de agua destilada y se introdujeron los tubos, en un baño de agua a 50 °C, durante 10 min (Selecta® Modelo UNITRONIC 320 OR, Barcelona, España). Transcurrido ese tiempo se enfriaron a temperatura ambiente durante 10 min y se procedió a la lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 765 nm. Los compuestos fenólicos totales se cuantificaron utilizando una curva patrón de ácido gálico de 0-100 mg/ml (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.) (figura 3.5). Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico (GAE)/100g de carne o hígado.

**Figura 3.5.** Patrones con concentraciones decrecientes de ácido gálico.

#### 3.4.6. Determinación de $\alpha$ -tocoferol

La concentración de  $\alpha$ -tocoferol se determinó por duplicado en muestras de carne liofilizadas sin conservar (0 días), siguiendo el método descrito por Buttriss y Diplock (1984).

Se pesaron 0,1 g por muestra que se colocaron en tubos de tapa de rosca de 15 ml, se añadieron 250 mg de ácido ascórbico (Panreac, Barcelona, España) y 7,3 ml de la solución de saponificación, que se preparaba diariamente, constituida por 11,5% de hidróxido de potasio (Panreac, Barcelona, España), en una mezcla de etanol absoluto (Panreac, Barcelona, España) (55% v/v) y H<sub>2</sub>O destilada (45% v/v). Después de eliminar el aire de cada tubo por desplazamiento con nitrógeno, se agitaban para que el ácido ascórbico se disolviera completamente, incubándose posteriormente, en agitación, durante 15 min en un baño de agua caliente a 80°C. Seguidamente los tubos se enfriaron en un recipiente con hielo y agua, añadiéndose, en frío, 4 ml de solución de hidroxibutilanisol (BHA) (Acros Organics, Geel, Bélgica) en isooctano (0,01%) (Scharlau, Barcelona, España). Los tubos se agitaron vigorosamente durante 2 minutos y se dejaron en reposo hasta observar la separación de fases, la fase superior se transfirió a un vial cromatográfico que se selló herméticamente con una cápsula de junta de teflón y se almacenó a -20°C hasta su análisis.

Para su análisis se inyectaron 50  $\mu$ l de de la fase superior en un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) con detector de fluorescencia (Hewlett-Packard 1100, Agilent Technologies GmbH, Waldbronn, Alemania), equipado con una columna Zorbax Rx-SIL (Narrow-Bore 2.1  $\times$  150 mm, 5  $\mu$ m, Agilent Technologies). La fase móvil comprendía una mezcla de isooctano y tetrahidrofurano (de grado HPLC), que se estableció en 98:2 v/v durante 5 min, 97:3 v/v 10 min y 98:2 v/v 10 min. En todo el proceso el flujo era constante de 1,1 ml/min. La detección de fluorescencia se llevó a cabo a una longitud de onda de excitación de 297 nm y a una longitud de onda de emisión de 321 nm. La cuantificación se realizó por medio de una curva de calibración de  $\alpha$ -tocoferol (Sigma-Aldrich Co., St. Louis,

EEUU.) en rangos que van de 0,2 a 1  $\mu\text{g/ml}$ . Los resultados se expresaron como  $\mu\text{g } \alpha\text{-tocoferol/g carne}$ .

#### 3.4.7. Actividad de las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa

Las muestras de carne (día 0), fueron descongeladas el mismo día del análisis, se limpiaron de fascias, grasa subcutánea e intramuscular y se picaron. De cada una de ellas y por duplicado, se tomaron 5 g en tubos de plástico de 50 ml de capacidad y se añadieron 25 ml de tampón fosfato 50 mM a pH 7,0. Esta mezcla fue homogeneizada en un homogeneizador Ultra Turrax T-25 (Ika Werke®, Alemania) durante 1 min a 13.000 rpm en hielo. Tras la homogeneización, se centrifugó a 7.000 rpm durante 20 min a 4 °C. El sobrenadante se filtró a través de lana de vidrio. En el filtrado se determinó la actividad enzimática de las tres enzimas:

**Catalasa (CAT):** Se realizó de acuerdo con el método de Mei et al. (1994), midiendo la descomposición del peróxido de hidrógeno a 240 nM en tiempo cero y a los veinte segundos a 22°C. El ensayo se llevó a cabo en un medio de reacción que contenía 2,9 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30 mM en tampón fosfato 50 mM (pH 7,0) con 0,1 ml del sobrenadante. Una unidad de actividad de la CAT se define como la cantidad de la enzima necesaria para descomponer 1  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  por minuto. La actividad se expresó en unidades (U) de CAT por gramo de carne.

**Superóxido dismutasa (SOD):** Se realizó de acuerdo con el método de Marklund y Marklund (1974), basado en la capacidad de SOD para inhibir la autooxidación del pirogalol. El ensayo se llevó a cabo en un medio de reacción que contenía 1,8 ml de tampón 50 mM tris-cacodílico (pH 8,2) (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.), 50  $\mu\text{l}$  de ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.) 0,8 mM, 100  $\mu\text{l}$  de pirogalol (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.) 10 mM y 50  $\mu\text{l}$  del sobrenadante de la muestra. La velocidad de auto-oxidación se determinó por la absorbancia medida a 420 nm durante 3 min después de 1 min reposo a 22°C. La actividad enzimática se calculó por medio de una curva estándar de SOD (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.) en rangos que van de 0 a 250 ng de dicha enzima. Una unidad de actividad de SOD se define como la cantidad de enzima que inhibe la autooxidación del pirogalol al 50 %. Se expresó como unidades (U) de SOD por gramo de carne.

**Glutation peroxidasa (GPX):** Se realizó de acuerdo con el método de Mei et al. (1994), midiendo la actividad de la enzima GPX. Se llevó a cabo en un medio de reacción que contenía tampón fosfato (Panreac, Barcelona, España) 50 mM pH 7,0, ácido etilén-diaminotetraacético (EDTA, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.) 0,5 mM, azida de sodio ( $\text{NaN}_3$ ) 1 mM (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.), glutatión reducido 30 mM (GPX, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.), 0,5 unidades de la glutatión reductasa (GR, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.), NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) 0,15 mM (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EEUU.),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Panreac, Barcelona, España) 4,5 mM y 300  $\mu\text{l}$  del sobrenadante de la muestra en un volumen total de 3 ml. La mezcla del medio de reacción con la muestra problema se incubó en un baño de agua a 22 °C durante 5 minutos antes de la adición del peróxido de hidrógeno. La disminución de la absorbancia a 340 nm se registró durante 3 min a 22 °C. Una unidad de actividad de GPX se definió como la cantidad de extracto necesaria para oxidar 1  $\mu\text{mol}$  de NADPH por minuto a 22 °C. La actividad se expresó en unidades (U) de GPX por gramo de carne.

#### 3.4.8. Determinación del color y de la proporción de metamioglobina

El color y la proporción de metamioglobina se determinaron por espectrofotometría en las muestras de carne, después de 0, 6 y 12 días de conservación en MAP. Las medidas se realizaron con un espectrocolorímetro portátil Minolta CM-2500c con rango de medida de 360-740 nm (figura 3.6). El color se midió por triplicado en la superficie de corte del músculo después de 1 hora de exposición al aire. Se utilizó como iluminante el D65, que representa mejor la luz del día, el observador 10° y un área de medida de 8 mm de diámetro, trabajando con el componente especular excluido (SCE/100). El colorímetro se calibró previamente, con una placa estándar CM-A145 (Minolta).

Para la valoración objetiva del color, los resultados se expresaron según el espacio de color CIEL\*a\*b\* (Comisión Internacional de l'Eclairage, CIE, 1986), que permite identificar un color con la ayuda de las coordenadas: Luminosidad ( $L^*$ ), índice de rojo ( $a^*$ ) e índice de amarillo ( $b^*$ ).

A partir de estas coordenadas se calcularon los índices colorimétricos  $C^*$  (cromaticidad) y  $h^*$  (tono) (Hopkins et al., 1995 y Hopkins, 1996), según las siguientes fórmulas:

$$\text{Saturación, cromaticidad o "chroma"} (C^*) = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

$$\text{Tono o "Hue"} (h^*)(\text{grados}) = \arctan \frac{b^*}{a^*}$$

**Figura 3.6.** Espectrocolorímetro y medición del color en la superficie de corte.



La proporción de metamioglobina (MetMb) se determinó mediante el método de cuantificación de pigmentos descrito por Krzywicki (1979) con algunas modificaciones descritas por De la Fuente et al. (2005). La determinación está basada en la medida del reflejo atenuado (absorbancia en materiales transparentes calculado como el logaritmo negativo de la reflectancia) de la luz incidente en los puntos isobélicos 572, 525 y 690.

Los valores requeridos se obtuvieron mediante lecturas simultáneas de color con el espectrocolorímetro. Se registraron los datos de reflectancia en cada una de las longitudes de onda de los puntos isobélicos citados anteriormente, que posteriormente fueron transformados a absorbancias:

$$A = -\log R = \log \frac{1}{R}$$

Siendo:

A = absorbancia

R = reflectancia

Para calcular la proporción de MetMb (%) con respecto al total de pigmentos de la carne, se consideró la expresión:

$$\text{MetMb (\%)} = 1,395 - a_1$$

$$\text{Donde } a_1 = \frac{A^{572} - A^{690}}{A^{525} - A^{690}}$$

Siendo los valores utilizados:

$A^{572}$  = Absorbancia a 572 nm

$A^{690}$  = Absorbancia a 690 nm

$A^{525}$  = Absorbancia a 525 nm

#### 3.4.9. Determinación del índice de oxidación lipídica (TBARS)

La oxidación lipídica se midió cuantificando las sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico (TBARS), realizándose por duplicado en las muestras de carne conservadas durante 0, 6 y 12 días en MAP, siguiendo el método descrito por Maraschiello et al. (1999). Este método consiste en la extracción de compuestos aldehídos y cetonas en medio ácido y de la posterior cuantificación del complejo formado por cada uno de ellos con dos moléculas del ácido tiobarbitúrico (TBA). Estos complejos se denominan sustancias reactivas con el ácido tiobarbitúrico o TBARS. Los TBARS son moléculas con un grupo cromógeno con máxima absorción a una longitud de onda de 532-535 nm, lo que hace posible su cuantificación espectrofotométrica. La intensidad del color es función lineal de la concentración de productos de la oxidación lipídica y por tanto del grado de oxidación.

Las muestras de carne fueron descongeladas el mismo día del análisis, se limpiaron de fascias y de grasa subcutánea e intramuscular y se picaron. De cada muestra, y por duplicado, se tomaron 2,5 g y se añadieron 20 ml de agua ultra pura (Mili Q). Esta mezcla fue homogeneizada con un homogeneizador Ultra Turrax T-25 (Ika Werke®, Alemania) durante 30 segundos a 13.000 rpm.

Para llevar a cabo la extracción de los compuestos que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico, se añadieron al homogeneizado 5 ml de ácido tricloroacético (TCA, Panreac, Barcelona, España) frío al 25 %, se agitaron los tubos y se dejaron en reposo 15 min a 4 °C. Transcurrido este tiempo, se centrifugaron a 10.000 rpm durante 15 min a 4 °C. El sobrenadante se filtró a través de un filtro Whatman nº 52. Del filtrado, se transfirieron 3,5 ml a un tubo de plástico con tapón de rosca de 10 ml y se reservó hasta la adición de la solución de TBA al 0,6 % (Sigma - Aldrich Co., St. Louis, EEUU.). Para la cuantificación de los TBARS se utilizó una recta de calibración obtenida con concentraciones del malonaldehído (MDA, Sigma - Aldrich Co., St. Louis, EEUU.) de 0 a 2,5  $\mu\text{g MDA}/\mu\text{l}$ , ya que el MDA es el principal producto de degradación de los hidroperóxidos lipídicos.

A los tubos con las muestras y a los de la recta de calibrado, se les añadió 1,5 ml de TBA al 0,6 % e inmediatamente después se agitaron y se incubaron 30 min a 70 °C. Seguidamente se enfriaron en un baño de hielo.

La cuantificación de los TBARS se realizó mediante lectura espectrofotométrica de la absorbancia de las muestras frente a un blanco a una longitud de onda de 532 nm, para ello se utilizó un espectrofotómetro UVA-Visible (Helio Gamma, Thermo Electron Corporation, Waltham, EEUU.). Los resultados se expresaron en mg MDA/kg carne.

#### 3.4.10. Determinación de los grupos carbonilos y de los grupos tioles

La oxidación de proteínas fue medida por el contenido en grupos carbonilo mediante la derivación de 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH), procedimiento que permite la cuantificación total de los grupos carbonilos formados en las proteínas de una muestra. Los grupos carbonilos totales se determinaron por triplicado siguiendo el procedimiento propuesto por Ganhão et al. (2010), en el día 0 y después de 6 y 12 días de almacenamiento en MAP. Para ello, se pesaron 25 mg de carne liofilizada y se añadió 10 ml de tampón fosfato 10 mM pH 6,0, con NaCl (Panreac, Barcelona, España) 0,6 N. Las muestras se mezclaron con agitador orbital a baja velocidad (aproximadamente 30 rpm) durante 2 h y se dejaron reposar durante 18 horas a 4 °C.

Se tomaron dos alícuotas de 0,2 ml y se llevaron a dos tubos eppendorf de 2 ml. Las proteínas se precipitaron con 1 ml de TCA frío 10% y se centrifugaron durante 5 min a 4.200 rpm. Para la valoración de la concentración de proteínas, el sedimento de una de las muestras se trató con 1 ml de HCl (Panreac, Barcelona, España) 2 M, y para la valoración de la concentración de carbonilo, el sedimento de la segunda muestra se trató con 1 ml de HCl 2 M con un 0,2 % (w/v) de DNPH (Sigma - Aldrich Co., St. Louis, EEUU.). Ambas muestras se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente. Posteriormente, las muestras fueron precipitadas con 1 ml de TCA frío al 10 % y se lavaron tres veces con 1 ml de etanol para eliminar el exceso de DNPH. Los gránulos se disolvieron a continuación en 1,5 ml de tampón fosfato 20 mM que contenía 6 M de guanidina HCl (Sigma - Aldrich Co., St. Louis, EEUU.) pH 6,5, que se agitó y se centrifugó 2 min a 4.200 rpm para eliminar los fragmentos insolubles. La concentración total de grupos carbonilo en las muestras se determinó espectrofotométricamente midiendo la absorbancia a 370 nm. La concentración de proteína se determinó espectrofotométricamente a

280 nm utilizando una curva estándar preparada a partir de albúmina sérica bovina (BSA) (Sigma - Aldrich Co., St. Louis, EEUU.). La cantidad de carbonilos se expresó como nmoles de carbonilo por mg de proteína.

La proporción de los grupos tioles fue medida por triplicado a los 0, 6 y 12 días de conservación, mediante el método descrito por Jongberg et al. (2011). Las muestras de carne se descongelaron a temperatura ambiente durante 1 h. Se homogeneizaron 2,0 g de carne en 50 ml de 5,0 % de dodecilsulfato de sodio (SDS) (Sigma - Aldrich Co., St. Louis, EEUU.), disueltos en tampón TRIS (tris (hidroximetil) aminometano) (Panreac, Barcelona, España) 100 mM pH 8,0 (homogeneizador Ultra Turrax T-25, Ika Werke®, Alemania). Los homogeneizados se colocaron en un baño de agua 30 min a 80 °C y fueron centrifugados posteriormente durante 20 min a 3.000 rpm. Los sobrenadantes se filtraron (en papel filtro que retenía partículas de 5 a 13 µm) y la concentración de proteína se determinó espectrofotométricamente a 280 nm utilizando una curva estándar preparada a partir de BSA. Los filtrados se analizaron de acuerdo con Liu y Xiong (2000), mediante la mezcla de 500 µl de muestra con 2 ml de tampón TRIS 100 mM pH 8,0 y 500 µl de reactivo 5,5'-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB, Sigma - Aldrich Co., St. Louis, EEUU.) 10 mM en tampón TRIS 100 mM pH 8,0. La absorbancia a 412 nm se midió antes de la adición de DTNB ( $BSA_{412\text{-antes}}$ ) y después de la reacción con DTNB ( $BSA_{412\text{-después}}$ ), frente a una solución de referencia de 500 µl 5,0 % de SDS y 2,5 ml de tampón TRIS 100 mM pH 8,0. La mezcla se dejó reaccionar protegida de la luz durante 30 min. Se utilizó como blanco ( $BSA_{412\text{-blanco}}$ ) una solución que contenía 2 ml de tampón TRIS 100 mM pH 8,0, 500 µl de 5,0 % de SDS y 500 µl DTNB 10 mM en tampón TRIS 100 mM pH 8,0. La absorbancia correspondiente a la concentración de tiol en la muestra fue:

$$Corr. BSA_{412} = BSA_{412\text{-después}} - BSA_{412\text{-antes}} - BSA_{412\text{-blanco}}$$

La concentración de tiol se calculó sobre la base de una curva estándar de 0,4 a 83,3 µM, preparadas a partir de L-cisteína, diluida en 5,0 % SDS en tampón TRIS 100 mM pH 8,0. El contenido de grupos tioles se expresó en nmol tiol/mg de proteína.

#### 3.4.11. Determinación de la composición en ácidos grasos

Para conocer la composición en ácidos grasos de la carne, se determinó, según el método descrito por Lee et al. (2012), la formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos

(FAMES), en carne liofilizada. Se utilizaron muestras de carne después de 0, 6 y 12 días de conservación y cada muestra se valoró por duplicado.

Se colocaron 0,25 g de carne liofilizada y 4 ml de metóxido de sodio en metanol anhidro, en tubos de vidrio con tapón con junta de teflón, (Panreac, Barcelona, España) 0,5 M. El patrón interno utilizado fue el ácido tridecanoico (C13:0, Sigma - Aldrich Co., St. Louis, EEUU.), en una concentración de 1 mg/ml heptano (Panreac, Barcelona, España). Las muestras se agitaron durante 30 seg en un vórtex y se incubaron 15 min en un baño de agua a 50 °C. Después del periodo de incubación, se añadió 4 ml de cloruro de acetilo en metanol anhidro (Panreac, Barcelona, España) (1:10; v/v), se agitó 30 s en vórtex y se incubó 60 min en baño de agua a 60 °C, enfriándose a temperatura ambiente. Una vez atemperadas, se añadió a las muestras 2 ml de agua destilada y 2 ml de heptano. Los tubos se agitaron 2 min y posteriormente se centrifugaron durante 5 min a 1.600 rpm. La fase superior orgánica fue trasvasada con pipeta Pasteur a un segundo tubo de vidrio con tapón. A los tubos originales se añadió otros 2 ml de heptano, se agitaron y se centrifugaron de nuevo. La fase superior orgánica fue de nuevo trasvasada al segundo tubo, a este tubo se añadió 0,2 g de sulfato sódico anhidro (Panreac, Barcelona, España), agitándose 30 segundos en un vórtex y centrifugándose 5 minutos a 1.600 rpm. Cuando el sulfato sódico anhidro se depositó en el fondo del tubo, la fase superior (ésteres metílicos de ácidos grasos) se transfirieron a un vial cromatográfico que se selló herméticamente con una cápsula de junta de teflón y se almacenó a -20°C hasta su análisis.

Para la cromatografía se utilizó un cromatógrafo de gases (Perkin-Elmer Autosystem-1:A, Massachusetts, USA), provisto de una columna capilar de sílice Omegawax<sup>TM</sup> 320 de Supelco, de muy alta polaridad específica para la determinación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos omega 3 y omega 6. La columna cromatográfica estaba compuesta por polietilenglicol de 0,32 mm de diámetro interno y 0,25 µm de espesor, con una longitud de 30 m. La inyección de las muestras se realizó con inyector automático, a temperatura de 250°C, con sistema de división de flujo split/splitless. Se trabajó en modo split, con una relación de split de 1/40. El volumen de inyección fue de 1 µl. La temperatura inicial del horno fue de 150°C, se mantuvo durante 1 min y se aplicó una rampa de temperatura de 6°C/min hasta llegar a 190°C. Una segunda rampa de 1 °C/min se aplicó hasta alcanzar una temperatura final de 210°C, que fue mantenida durante 23 min hasta el final. El tiempo total del programa fue de 50,7 min. El detector utilizado fue un detector de ionización de llama (FID), con temperatura programada de 255°C. La sensibilidad del detector se dispuso al máximo. Para el

funcionamiento del mismo se utilizaron libres de impurezas orgánicas: hidrógeno C-50, a un flujo de 40 ml/min, y aire sintético C-45 a un flujo de 400 ml/min, y como gas portador helio C-50 seco, a un flujo de 9 psig. Para la integración se utilizó un programa acoplado al cromatógrafo (TotalChrom Workstation Ver6.3.1) y una interfase (600 Series Link).

La identificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos obtenidos en los cromatogramas, se realizó mediante la comparación de los tiempos de retención de los mismos, con los tiempos de retención de los patrones Supelco™ 37 Component FAME Mix y ácido docosapentanoico (C22:5n3) (Sigma Aldrich Co., St. Louis, EEUU.). Una vez identificados los picos, se calculó la proporción de los ácidos grasos respecto al área total, considerando como área total la suma de las áreas de todos los picos identificados. Los resultados se expresaron en mg de ácido graso/100 mg de ácidos grasos identificados.

#### 3.4.12. Análisis sensorial

La evaluación sensorial se realizó en carne cocinada de los días 0 y 6 de conservación en MAP a 4°C, mediante un panel semientrenado compuesto de ocho jueces. Los miembros del panel, fueron capacitados en los perfiles sensoriales de carne de cordero en 10 sesiones de entrenamiento. Los jueces recibieron un entrenamiento adicional para la evaluación específica de olores y sabores extraños, siguiendo el método descrito por Gasperi et al. (2005).

El día anterior a la realización del análisis se descongelaron las chuletas, manteniéndose 24 horas a 4 °C. Se introdujeron las chuletas, envueltas en papel de aluminio, en un horno (XF0303-TG, Unox, Vigodarzere, Italia) precalentado a 175°C, hasta que la temperatura interna de cada chuleta alcanzó los 70°C, midiéndose la temperatura con una sonda de termopar (tipo K termopar) insertada en el centro de cada una. Después de la cocción, se retiró la grasa y el tejido conectivo visible y se tomó una porción de *Longissimus dorsi* de aproximadamente 2 cm<sup>3</sup> de cada una. Las muestras cocinadas se envolvieron en papel de aluminio, y se identificaron con un código de tres dígitos al azar, manteniéndose a temperatura constante de almacenamiento de 60 °C hasta su consumo por los panelistas (figura 3.7). Cada panelista evaluó 10 muestras por sesión, una de cada dieta para los dos períodos de almacenamiento (0 y 6 días), utilizando una escala lineal no estructurada de 100 mm. Los jueces estaban en cabinas individuales, disponiendo de pan sin sal y agua a temperatura ambiente para limpiar el paladar entre muestras, evaluando estas en condiciones de luz roja,

Los descriptores sensoriales evaluados fueron los siguientes:

**Olor:** Inmediatamente después de desenvolver la muestra sobre los vapores desprendidos de esta.

- Intensidad de olor a cordero: olor global a cordero teniendo en cuenta todos los matices que participan en la formación del olor característico de la carne de cordero.
- Intensidad de olor a rancio.
- Intensidad de olores extraños.

**Textura:** valorada durante la masticación de un trozo de muestra con los molares de forma perpendicular a la superficie del trozo.

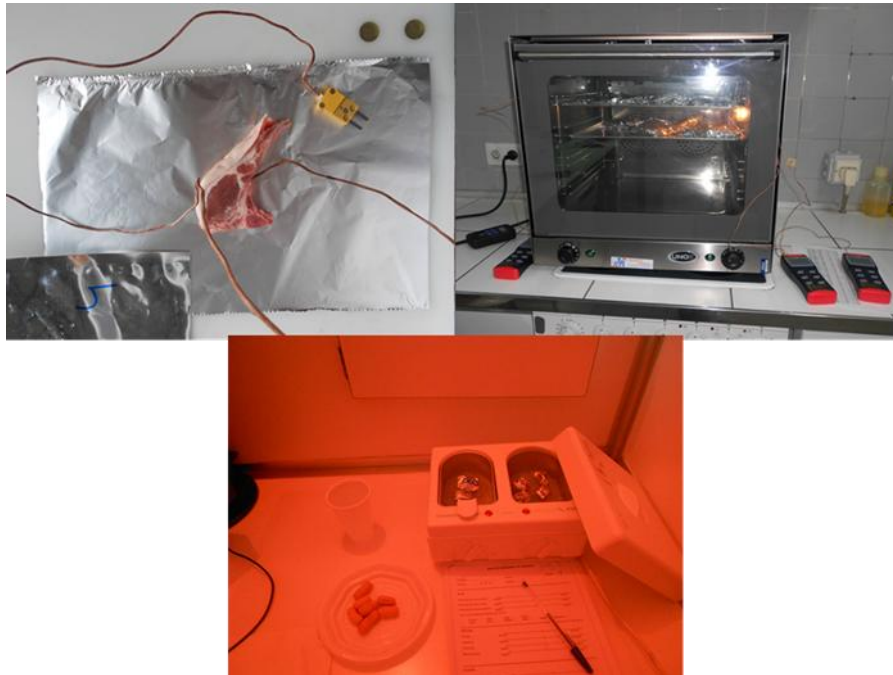
- Terneza: fuerza requerida para deformar un trozo de carne entre los molares, a mayor fuerza menor puntuación en la escala.
- Jugosidad: cantidad de agua o jugo liberado por el producto o de insalivación producida.
- Fibrosidad: Cantidad de restos de carne que quedan en la boca después de comerla.
- Masticabilidad: Tiempo o número de masticaciones necesarios para deglutir la muestra.

**Flavor:** Determinada durante el proceso de masticación de cada trozo de muestra caliente.

- Intensidad de flavor a cordero: La determinación conjunta de la percepción de sabor y olor a cordero teniendo en cuenta todos los matices que participan en la formación de ese flavor característico.
- Intensidad de flavor residual a grasa: flavor de la grasa que queda en la boca justo después de tragar la carne.
- Intensidad de flavor a rancio.
- Intensidad de flavor extraño: grasa, hierba, hígado.

**Apreciación global:** Valorando cuánto ha gustado la muestra.

**Figura 3.7.** Preparación de muestras para el análisis sensorial.



### 3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa SAS System SAS V 9.1.3. para Windows.

Para los parámetros relacionados con el animal vivo y con la calidad de la canal y de la carne que se valoraron solo en el momento inicial, se realizó un análisis de varianza de una vía utilizando el PROC GLM, teniendo el efecto dieta como efecto fijo, según el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + D_i + \varepsilon_{j(i)}$$

donde:

$\mu$ : media general

$D_i$ : efecto de la dieta

$\varepsilon_{j(i)}$ : error experimental

Para los parámetros de calidad de carne que se valoraron a largo del periodo de conservación, se utilizó el procedimiento PROC MIXED. En el modelo de análisis se incluyó el efecto dieta como efecto fijo y el efecto periodo de conservación, como medida repetida en el tiempo y además la interacción entre ambos factores, según el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + PC_j + D_i \times PC_j + \varepsilon_{ij(k)}$$

donde:

$\mu$ : media general

$D_i$ : efecto de la dieta

$PC_j$ : efecto del periodo de conservación

$\varepsilon_{ij(k)}$ : error experimental

En el análisis sensorial, como las variables se valoraron en dos tiempos conservación, se utilizó el procedimiento PROC MIXED. En el modelo de análisis se incluyó el efecto dieta, como efecto fijo y el efecto del periodo de conservación, como medida repetida en el tiempo, incluyendo además la interacción entre estos dos factores. Asimismo, se incluyó el efecto de la sesión y el efecto del juez como efectos aleatorios, para reducir la posible influencia de estas dos fuentes de variación en el análisis sensorial, según el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + PC_j + S_k + JZ_l + D_i \times PC_j + \varepsilon_{ijkl(m)}$$

donde:

$\mu$ : media general

$D_i$ : efecto de la dieta

$PC_j$ : efecto del periodo de conservación

$S_k$ : efecto de la sesión

$JZ_l$ : efecto del juez

$\varepsilon_{ijkl(m)}$ : error experimental

Para comprobar que matriz de covarianza de los errores se ajustaba a los datos obtenidos se ha utilizado el Criterio de Información Bayesiano (BIC), estudiando las siguientes matrices: simétrica (CS), componente de varianza (VC), la autorregresiva de primer orden (AR(1)), la autoheterorregresiva de primer orden (ARH(1)) y la desestructurada (UN).

Cuando el efecto de la dieta, del periodo de conservación o la interacción entre ambos parámetros era significativo ( $p < 0,05$ ), se realizó una comparación de medias utilizando el test Dunn-Sidak con un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

## ***RESULTADOS***

---

## 4. RESULTADOS

### 4.1. CRECIMIENTO DE LOS ANIMALES Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL

En la Tabla 4.1. se muestra el efecto de la suplementación con extracto de aceituna y con vitamina E en los pesos vivos al comienzo y final de la prueba y en la ganancia media diaria (GMD) de los cinco grupos estudiados.

Los corderos iniciaron el período de cebo experimental con un peso vivo medio de  $12,6 \pm 0,45$  kg (PVI), no observándose diferencias entre tratamientos. El peso vivo al sacrificio (PVS) fue de  $24,0 \pm 0,5$  kg.

La dieta incidió en la GMD ( $p < 0,05$ ), presentando los corderos del grupo GMIX la mayor GMD con un valor medio de 249,1 g/día, teniendo los grupos G150, G300 y GVE, valores de 178,9, 198,3 y 193,4 g/día respectivamente. Las diferencias fueron significativas, solo entre el grupo GMIX y el grupo G150.

**Tabla 4.1.** Medias  $\pm$  EE del peso vivo inicial, peso vivo al sacrificio y ganancia media diaria de los corderos en función de la dieta.

	Dieta					Sign.
	GC	G150	G300	GVE	GMIX	
<b>PVI</b> (kg)	12,3 $\pm$ 0,76	12,4 $\pm$ 0,31	12,6 $\pm$ 0,20	12,6 $\pm$ 0,56	12,8 $\pm$ 0,41	NS
<b>PVS</b> (kg)	24,5 $\pm$ 0,65	24,3 $\pm$ 0,82	24,7 $\pm$ 0,50	24,8 $\pm$ 0,38	24,4 $\pm$ 0,27	NS
<b>GMD</b> (g/día)	236,5 $\pm$ 27,2 <sup>ab</sup>	178,9 $\pm$ 18,0 <sup>b</sup>	198,3 $\pm$ 13,8 <sup>ab</sup>	193,4 $\pm$ 9,6 <sup>ab</sup>	249,1 $\pm$ 12,1 <sup>a</sup>	*

PVI: Peso vivo inicial; PVS: Peso vivo al sacrificio; GMD: Ganancia media diaria; GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar. Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ . <sup>a, b</sup> Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ).

En la Tabla 4.2. se presentan las características de la canal, incluyendo pH inicial (0 horas) y final (24 horas) de los músculos *Longissimus dorsi* (LD) y *Semitendinosus* (ST), de los cinco

grupos estudiados. No se han observado diferencias significativas ( $p>0,05$ ) debidas la dieta, para ninguno de los parámetros estudiados.

Las medias para el peso de la canal caliente (PCC) y el peso de la canal fría (PCF) fueron de 11,0 kg y de 10,7 kg respectivamente, y para las pérdidas por refrigeración (PPR) de 2,9%. En relación al rendimiento de la canal la media fue de 43,5% y para el estado de engrasamiento de la canal de 2,5 puntos.

El valor medio del pH medido en el músculo LD al momento del sacrificio fue de 6,74, disminuyendo a las 24 horas post sacrificio a 5,81. Inicialmente, el pH del músculo ST fue menor al del músculo LD, con un valor medio de 6,35 inicialmente y de 5,81 a las 24 horas.

**Tabla 4.2.** Media  $\pm$  EE de los parámetros productivos medidos en la canal en función de la dieta.

	Dieta					Sign.
	GC	G150	G300	GVE	GMIX	
<b>PCC (kg)</b>	11,1 $\pm$ 0,30	10,7 $\pm$ 0,27	10,8 $\pm$ 0,32	11,2 $\pm$ 0,3	11,0 $\pm$ 0,28	NS
<b>PCF (kg)</b>	10,7 $\pm$ 0,31	10,4 $\pm$ 0,27	10,5 $\pm$ 0,33	11,1 $\pm$ 0,31	10,7 $\pm$ 0,29	NS
<b>PPR (%)</b>	3,28 $\pm$ 0,55	2,85 $\pm$ 0,49	2,52 $\pm$ 0,59	2,57 $\pm$ 0,55	3,29 $\pm$ 0,52	NS
<b>Rendimiento (%)</b>	43,9 $\pm$ 0,65	43,0 $\pm$ 0,58	43,2 $\pm$ 0,69	44,0 $\pm$ 0,65	43,7 $\pm$ 0,61	NS
<b>Engrasamiento<sup>†</sup></b>	2,56 $\pm$ 0,13	2,25 $\pm$ 0,11	2,37 $\pm$ 0,13	2,55 $\pm$ 0,13	2,51 $\pm$ 0,12	NS
<b>pH <i>Longissimus dorsi</i></b>						
<b>inicial</b>	6,73 $\pm$ 0,04	6,74 $\pm$ 0,04	6,71 $\pm$ 0,05	6,75 $\pm$ 0,04	6,79 $\pm$ 0,04	NS
<b>final</b>	5,80 $\pm$ 0,04	5,76 $\pm$ 0,04	5,79 $\pm$ 0,04	5,88 $\pm$ 0,04	5,82 $\pm$ 0,04	NS
<b>pH <i>Semitendinosus</i></b>						
<b>inicial</b>	6,32 $\pm$ 0,06	6,37 $\pm$ 0,05	6,26 $\pm$ 0,06	6,42 $\pm$ 0,06	6,39 $\pm$ 0,06	NS
<b>final</b>	5,78 $\pm$ 0,04	5,74 $\pm$ 0,04	5,81 $\pm$ 0,05	5,91 $\pm$ 0,05	5,81 $\pm$ 0,04	NS

PCC: Peso canal caliente; PCF: Peso canal fría; PPR (%): Pérdidas por refrigeración; Rendimiento (%): Rendimiento a la canal; <sup>†</sup> Engrasamiento: Escala de 4 puntos, 1 valor mínimo y 4 valor máximo; pH inicial (0 horas *postmortem*) y final (24 horas *postmortem*); GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: No significativo  $p>0,05$ .

#### 4.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA

La Tabla 4.3. muestra el efecto de la dieta en la composición química de la carne de cordero. La composición química de la carne no se encontró afectada por la dieta suministrada a los corderos, con una proporción media del 18,7% de proteína, 2,83% de grasa, 1,07% de cenizas y una humedad de 76,4%.

**Tabla 4.3.** Media  $\pm$  EE de la composición química de la carne (%) en función de la dieta.

	Dieta					Sign.
	GC	G150	G300	GVE	GMIX	
<b>Proteína (%)</b>	18,3 $\pm$ 0,73	18,3 $\pm$ 0,65	19,2 $\pm$ 0,78	19,1 $\pm$ 0,73	18,7 $\pm$ 0,69	NS
<b>Grasa (%)</b>	3,01 $\pm$ 0,36	2,62 $\pm$ 0,32	3,07 $\pm$ 0,38	2,74 $\pm$ 0,36	2,75 $\pm$ 0,34	NS
<b>Cenizas (%)</b>	1,72 $\pm$ 0,29	0,91 $\pm$ 0,26	0,84 $\pm$ 0,33	0,71 $\pm$ 0,29	1,16 $\pm$ 0,29	NS
<b>Humedad (%)</b>	76,6 $\pm$ 0,24	76,4 $\pm$ 0,22	76,2 $\pm$ 0,26	76,2 $\pm$ 0,24	76,8 $\pm$ 0,23	NS

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ .

#### 4.3. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

En la Tabla 4.4. figura la actividad de las enzimas catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPX) en la carne de cordero de los cinco grupos experimentales. La actividad de las enzimas CAT y SOD no estuvo afectada significativamente por la dieta, con valores medios de 302 y 115 U/g carne, respectivamente.

En relación a la actividad de la enzima GPX, se observó una tendencia ( $p=0,08$ ) hacia una mayor actividad de la enzima en el grupo GMIX, con un valor medio de 0,85 U/g carne, comparada con los otros cuatro grupos, presentando valores de 0,59 U/g carne los grupos CG y G150, de 0,52 U/g carne el grupo G300, y de 0,58 U/g carne el grupo GVE.

**Tabla 4.4.** Media  $\pm$  EE de la actividad de las enzimas catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPX), en función de la dieta.

	Dieta					Sign.
	GC	G150	G300	GVE	GMIX	
<b>CAT</b> (U/g carne)	255,4 $\pm$ 34,6	330,2 $\pm$ 29,5	301,3 $\pm$ 37,0	264,2 $\pm$ 34,6	360,9 $\pm$ 32,6	NS
<b>SOD</b> (U/g carne)	123,5 $\pm$ 11,4	111,2 $\pm$ 9,72	119,2 $\pm$ 12,2	101,7 $\pm$ 11,4	120,8 $\pm$ 10,8	NS
<b>GPX</b> (U/g carne)	0,59 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	0,59 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	0,52 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	0,58 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	0,85 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	0,08

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ . <sup>a,b</sup> Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4. CONTENIDO EN POLIFENOLES TOTALES (TPC) Y $\alpha$ -TOCOFEROL

En la Tabla 4.5. figura la concentración total de polifenoles en la carne y en el hígado y la concentración total de  $\alpha$ -tocoferol en la carne de los cinco grupos estudiados. La concentración de polifenoles en la carne no presentó diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los grupos estudiados, con un valor medio de 14,3 mg GAE/g de carne. El contenido total de polifenoles en las muestras de hígado, fue mayor que el contenido de polifenoles de la carne, registrándose un valor medio de 35,4 mg GAE/g de hígado. La concentración de polifenoles en el hígado estuvo significativamente afectada por la dieta ( $p < 0,05$ ), así los corderos suplementados con vitamina E (GMIX con un valor medio de 41,5 mg GAE/g hígado y GVE con un valor medio de 40,9 mg GAE/g hígado) presentaron mayor concentración de polifenoles que los grupos GC, G150 y G300, con una concentración de alrededor de 31,5 mg GAE/g hígado.

La concentración de  $\alpha$ -tocoferol de la carne estuvo significativamente afectada por la dieta ( $p < 0,001$ ). Los corderos suplementados con vitamina E presentaron mayor concentración de  $\alpha$ -tocoferol en carne, con medias de 5,69 y 4,84 mg/kg carne para los grupos GVE y GMIX respectivamente, comparado con los grupos GC, G150 y G300 con medias de 2,74, 2,37 y 2,71 mg /kg carne, respectivamente.

**Tabla 4.5.** Media  $\pm$  EE de la concentración de polifenoles totales (TPC) en la carne y en el hígado, y de la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en la carne en función de la dieta.

	Dieta					Sign.
	GC	G150	G300	GVE	GMIX	
<b>TPC carne</b> (mg GAE/g tejido)	15,07 $\pm$ 0,95	14,24 $\pm$ 0,85	14,57 $\pm$ 1,10	13,67 $\pm$ 0,95	14,14 $\pm$ 0,89	NS
<b>TPC hígado</b> (mg GAE/g tejido)	31,2 $\pm$ 3,52 <sup>b</sup>	31,90 $\pm$ 2,35 <sup>b</sup>	31,5 $\pm$ 2,66 <sup>b</sup>	40,9 $\pm$ 2,49 <sup>a</sup>	41,5 $\pm$ 2,88 <sup>a</sup>	*
<b><math>\alpha</math>-tocoferol carne</b> (mg/kg tejido)	2,74 $\pm$ 0,44 <sup>b</sup>	2,37 $\pm$ 0,41 <sup>b</sup>	2,71 $\pm$ 0,54 <sup>b</sup>	5,69 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	4,84 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup>	***

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo;  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ , \*\*\* $p < 0,001$ . <sup>a,b</sup> Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ).

#### 4.5. COLOR Y PROPORCIÓN DE METAMIOGLOBINA

La Tabla 4.6. muestra los parámetros de color de la carne en función de la dieta de los corderos y del periodo de conservación. El parámetro de color L\* (luminosidad) estuvo afectado por la dieta ( $p < 0,01$ ) y por el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), no observándose interacciones significativas entre ambos factores. El grupo G150 registró la mayor L\*, con una media de 44,1, y el grupo GMIX el valor más bajo, con 40,2 de media, el resto de grupos presentaron valores intermedios. En relación al periodo de conservación, se observó que la luminosidad de la carne aumentaba con el tiempo de conservación ( $p < 0,001$ ).

El índice de rojo ( $a^*$ ) estuvo afectado por la dieta ( $p < 0,01$ ) y por el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), observándose también una interacción significativa ( $p < 0,001$ ) entre ambos factores. Para todos los grupos hubo un aumento del valor de  $a^*$  entre los 0 y 6 días de conservación. Entre los 6 y los 12 días de conservación, el índice de rojo disminuyó en los grupos GC y G150, mientras que en los grupos G300 y en los suplementados con vitamina E (GVE y GMIX) permaneció constante; observándose a los 12 días de conservación un mayor índice de rojo en los lotes GVE y GMIX, con medias de 9,40 y 9,89 respectivamente, y el menor en el GC con un valor de 5,64.

El índice de amarillo ( $b^*$ ) sólo estuvo afectado significativamente por el periodo de conservación ( $p > 0,001$ ). Dicho índice aumentó de 0 a 6 días de conservación, pasando de 11,5 a 14,7 y se mantuvo constante del día 6 al día 12.

El parámetro  $C^*$  (cromaticidad) se vio afectado significativamente por el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), pero no por la dieta suministrada ( $p > 0,05$ ) ni por la interacción entre ambos factores ( $p > 0,05$ ). Así,  $C^*$  aumentó significativamente de 0 a 6 días de conservación, pasando de 13,5 a 17,7 y disminuyó de 6 a 12 días de conservación con un valor medio de 16,9 a los 12 días.

En cuanto al parámetro  $h^*$  (tono) se observó un efecto de la dieta ( $p < 0,05$ ), del periodo de conservación ( $p < 0,001$ ) así como una interacción entre ambos factores ( $p < 0,001$ ). En este sentido el valor de  $h^*$  no se modificó a lo largo de todo el tiempo en los grupos GVE, GMIX y G300. En cambio, en el grupo GC, el tono disminuyó del día 0 al 6 de conservación, aumentando del día 6 al 12 de conservación. En el grupo G150 se observó un aumento del tono del día 0 al día 12 y del día 6 al 12 de conservación. En el día 12, los grupos suplementados con vitamina E (GVE y GMIX) tuvieron un valor menor de  $h^*$  en comparación con los grupos GC y G150.

En la Tabla 4.7. y en la Figura 4.1 aparecen los resultados obtenidos para la proporción de metamioglobina de la carne en función de la dieta y del periodo de conservación. La proporción de metamioglobina estuvo afectada por la dieta ( $p < 0,05$ ) y por el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), presentando una interacción significativa entre ambos factores ( $p < 0,001$ ). El día 0 no hubo diferencias entre grupos con un valor medio de 10,8%. En los grupos GC y G150 la proporción de metamioglobina aumentó de forma significativa a lo largo de la conservación. En cambio en los grupos G300, GVE y GMIX la metamioglobina solamente aumentó del día 0 al día 6 de conservación. El día 12 de conservación el grupo GC tuvo la proporción más alta con un valor de 49,4% y el GMIX y GVE las más bajas con 30,2 y 30,6 % respectivamente.

**Tabla 4.6.** Media  $\pm$  EE de los parámetros de color de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
<b>L*</b>	0	39,2 $\pm$ 0,81	41,1 $\pm$ 0,73	39,6 $\pm$ 0,87	39,4 $\pm$ 0,81	37,2 $\pm$ 0,77	39,3 $\pm$ 0,36 <sup>z</sup>			
	6	43,0 $\pm$ 0,81	44,3 $\pm$ 0,73	43,0 $\pm$ 0,81	42,8 $\pm$ 0,81	41,6 $\pm$ 0,73	43,0 $\pm$ 0,36 <sup>y</sup>			
	12	45,1 $\pm$ 0,81	46,8 $\pm$ 0,73	44,1 $\pm$ 0,87	42,5 $\pm$ 0,81	41,8 $\pm$ 0,77	44,2 $\pm$ 0,36 <sup>x</sup>	**	***	NS
<b>Media</b>		42,5 $\pm$ 0,67 <sup>ab</sup>	44,1 $\pm$ 0,60 <sup>a</sup>	42,2 $\pm$ 0,64 <sup>ab</sup>	41,6 $\pm$ 0,67 <sup>ab</sup>	40,2 $\pm$ 0,64 <sup>b</sup>				
<b>a*</b>	0	6,90 $\pm$ 0,47 <sup>y</sup>	7,58 $\pm$ 0,48 <sup>y</sup>	7,32 $\pm$ 0,39 <sup>y</sup>	6,81 $\pm$ 0,48 <sup>y</sup>	7,24 $\pm$ 0,28 <sup>y</sup>	7,18 $\pm$ 0,21			
	6	10,3 $\pm$ 0,46 <sup>x</sup>	9,65 $\pm$ 0,46 <sup>x</sup>	10,2 $\pm$ 0,30 <sup>x</sup>	9,35 $\pm$ 0,56 <sup>x</sup>	9,58 $\pm$ 0,42 <sup>x</sup>	9,79 $\pm$ 0,22			
	12	5,64 $\pm$ 0,55 <sup>c,y</sup>	5,86 $\pm$ 0,35 <sup>bc,y</sup>	8,09 $\pm$ 0,32 <sup>ab,xy</sup>	9,40 $\pm$ 0,46 <sup>a,x</sup>	9,89 $\pm$ 0,48 <sup>a,x</sup>	7,82 $\pm$ 0,35	**	***	***
<b>Media</b>		7,74 $\pm$ 0,54	7,77 $\pm$ 0,39	8,54 $\pm$ 0,34	8,52 $\pm$ 0,38	8,90 $\pm$ 0,32				
<b>b*</b>	0	11,5 $\pm$ 0,45	11,1 $\pm$ 0,40	11,6 $\pm$ 0,48	10,8 $\pm$ 0,45	12,4 $\pm$ 0,42	11,5 $\pm$ 0,20 <sup>y</sup>			
	6	14,8 $\pm$ 0,55	14,1 $\pm$ 0,49	14,6 $\pm$ 0,58	14,3 $\pm$ 0,55	15,6 $\pm$ 0,51	14,7 $\pm$ 0,24 <sup>x</sup>			
	12	15,8 $\pm$ 0,63	14,6 $\pm$ 0,56	14,7 $\pm$ 0,67	13,2 $\pm$ 0,63	15,8 $\pm$ 0,59	14,8 $\pm$ 0,28 <sup>x</sup>	NS	***	NS
<b>Media</b>		14,0 $\pm$ 0,48	13,2 $\pm$ 0,43	13,6 $\pm$ 0,51	12,7 $\pm$ 0,48	14,6 $\pm$ 0,5				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . <sup>a,b,c</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). <sup>x,y,z</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.6. Continuación.** Media  $\pm$  EE de los parámetros de color de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
<b>C*</b>	0	13,3 $\pm$ 0,61	13,3 $\pm$ 0,55	13,8 $\pm$ 0,65	12,8 $\pm$ 0,61	14,4 $\pm$ 0,58	13,5 $\pm$ 0,27 <sup>z</sup>			
	6	18,1 $\pm$ 0,31	17,1 $\pm$ 0,55	17,8 $\pm$ 0,65	16,3 $\pm$ 0,61	18,4 $\pm$ 0,58	17,7 $\pm$ 0,27 <sup>x</sup>			
	12	17,3 $\pm$ 0,61	15,9 $\pm$ 0,55	16,6 $\pm$ 0,65	17,1 $\pm$ 0,65	18,7 $\pm$ 0,58	16,9 $\pm$ 0,27 <sup>y</sup>	NS	***	NS
<b>Media</b>		16,2 $\pm$ 0,50	15,4 $\pm$ 0,45	16,1 $\pm$ 0,54	15,4 $\pm$ 0,50	17,2 $\pm$ 0,48				
<b>h*</b>	0	60,8 $\pm$ 1,94 <sup>x</sup>	57,5 $\pm$ 1,74 <sup>y</sup>	57,7 $\pm$ 2,08	57,8 $\pm$ 1,94	59,7 $\pm$ 1,83	58,7 $\pm$ 0,85			
	6	55,3 $\pm$ 1,28 <sup>y</sup>	55,8 $\pm$ 1,15 <sup>y</sup>	55,0 $\pm$ 1,37	56,9 $\pm$ 1,28	58,7 $\pm$ 1,21	56,4 $\pm$ 0,56			
	12	68,3 $\pm$ 2,01 <sup>a,x</sup>	66,9 $\pm$ 1,80 <sup>a,x</sup>	63,0 $\pm$ 2,15 <sup>ab</sup>	54,5 $\pm$ 2,01 <sup>b</sup>	58,0 $\pm$ 1,90 <sup>b</sup>	62,2 $\pm$ 0,89	*	***	***
<b>Media</b>		61,4 $\pm$ 1,97	60,0 $\pm$ 1,01	58,6 $\pm$ 1,20	56,4 $\pm$ 1,13	58,8 $\pm$ 1,06				

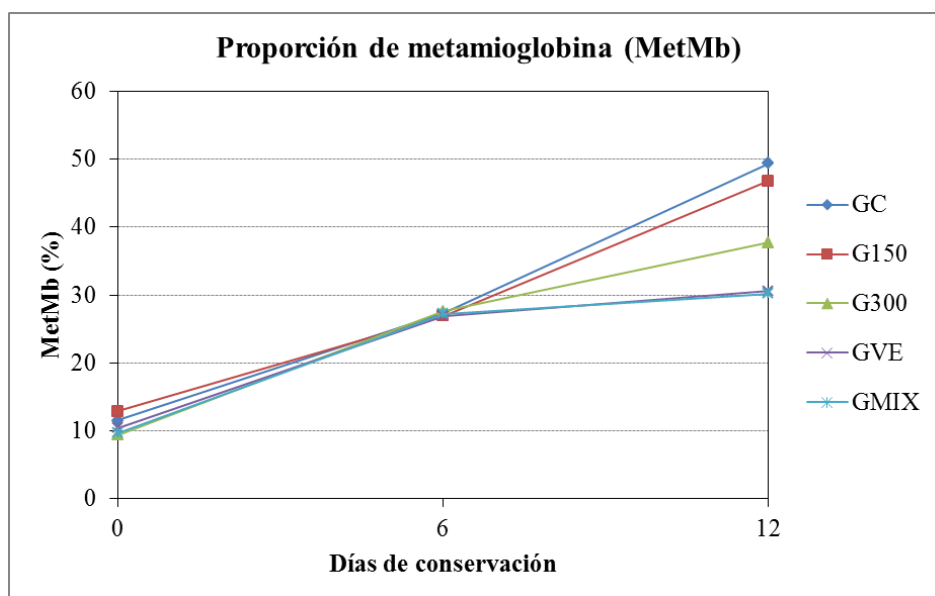
GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . <sup>a,b,c</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). <sup>x,y,z</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.7.** Media  $\pm$  EE de la proporción de metamioglobina (MetMb) de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
	0	11,5 $\pm$ 0,37 <sup>z</sup>	12,9 $\pm$ 0,79 <sup>z</sup>	9,4 $\pm$ 0,87 <sup>y</sup>	10,4 $\pm$ 0,84 <sup>y</sup>	9,7 $\pm$ 0,77 <sup>y</sup>	10,8 $\pm$ 0,37			
<b>MetMb (%)</b>	6	27,3 $\pm$ 1,23 <sup>y</sup>	26,9 $\pm$ 1,23 <sup>y</sup>	27,6 $\pm$ 1,31 <sup>x</sup>	26,9 $\pm$ 1,09 <sup>x</sup>	27,2 $\pm$ 1,15 <sup>x</sup>	27,2 $\pm$ 0,54			
	12	49,4 $\pm$ 3,68 <sup>a, x</sup>	46,8 $\pm$ 3,40 <sup>ab, x</sup>	37,7 $\pm$ 4,14 <sup>ab, x</sup>	30,6 $\pm$ 3,68 <sup>b, x</sup>	30,2 $\pm$ 3,60 <sup>b, x</sup>	39,2 $\pm$ 1,66	*	***	***
<b>Media</b>		30,2 $\pm$ 1,65	29,4 $\pm$ 1,81	24,2 $\pm$ 1,81	23,1 $\pm$ 1,81	22,1 $\pm$ 1,59				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . <sup>a,b,c</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). <sup>x,y,z</sup> Diferentes letras de una misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

**Figura 4.1.** Evolución de la proporción de metamioglobina (MetMb) de la carne en función de la dieta y del periodo de conservación.



GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna.

#### 4.6. OXIDACIÓN LIPÍDICA (TBARS) Y PROTEICA (CARBONILOS Y TIOLES)

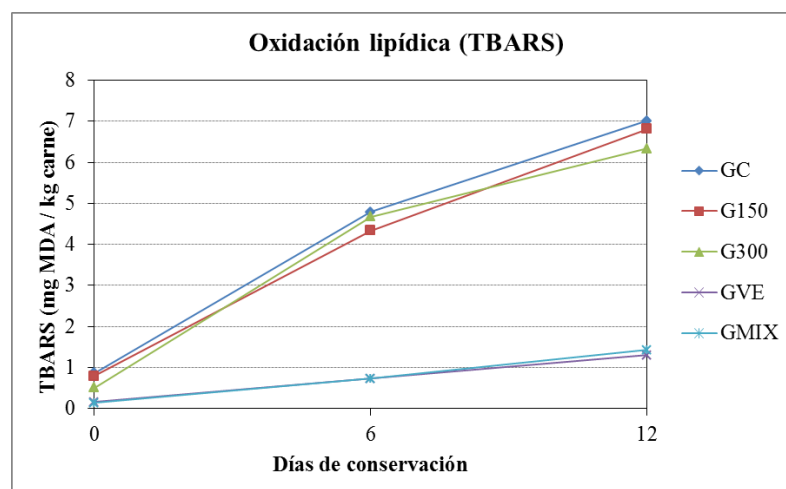
La Tabla 4.8 y la Figura 4.2 muestran los efectos de la suplementación con extracto de aceituna y con vitamina E en la evolución de los TBARS a lo largo de la conservación. La concentración de TBARS estuvo afectada por la dieta ( $p < 0,001$ ) y el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), además se observó una interacción entre ambos factores ( $p < 0,001$ ). El índice de oxidación lipídica tuvo un valor medio inicial (0 días) de 0,49 mg MDA/kg carne, no observándose diferencias significativas entre los grupos estudiados. En los grupos GC y G150 la concentración de TBARS aumentó durante toda la conservación, pasando en el grupo GC de 0,87 mg de MDA/kg carne a los 0 días, a 7,01 mg de MDA/kg carne a los 12 días. En el grupo G150 la concentración de TBARS aumentó de 0,79 mg MDA/kg carne el día 0 a 6,81 mg de MDA/kg carne a los 12 días. En el grupo G300 se observó un incremento en la concentración TBARS de 0 a 6 días, pasando de 0,51 mg de MDA/kg carne a los 0 días a un 4,67 mg de MDA/kg carne a los 6 días, mientras que de los 6 a los 12 días, las diferencias, no fueron significativas. En cambio en los grupos suplementados con vitamina E, GVE y GMIX, la concentración de TBARS se mantuvo constante a lo largo de todo el periodo de conservación; debido a todo ello, a los 6 y 12 días de conservación GVE y GMIX mostraron niveles significativamente menores de TBARS que los grupos GC, G150 y G300.

**Tabla 4.8.** Media  $\pm$  EE del índice de oxidación lipídica (TBARS) de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX	D	PC	DxPC
<b>TBARS</b> (mg MDA/kg carne)	0	0,87 $\pm$ 0,25 <sup>z</sup>	0,79 $\pm$ 0,22 <sup>z</sup>	0,51 $\pm$ 0,27 <sup>y</sup>	0,16 $\pm$ 0,23	0,14 $\pm$ 0,25			
	6	4,79 $\pm$ 0,59 <sup>a,y</sup>	4,34 $\pm$ 0,52 <sup>a,y</sup>	4,67 $\pm$ 0,63 <sup>a,x</sup>	0,73 $\pm$ 0,56 <sup>b</sup>	0,73 $\pm$ 0,59 <sup>b</sup>	***	***	***
	12	7,01 $\pm$ 0,50 <sup>a,x</sup>	6,81 $\pm$ 0,45 <sup>a,x</sup>	6,33 $\pm$ 0,54 <sup>a,x</sup>	1,30 $\pm$ 0,48 <sup>b</sup>	1,43 $\pm$ 0,50 <sup>b</sup>			

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; \*\*\*  $p < 0,001$ . <sup>a,b</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). <sup>x,y,z</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

**Figura 4.2.** Evolución del índice de oxidación lipídica (TBARS) de la carne en función de la dieta y del periodo de conservación.



GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm extracto de aceituna.

En la Tabla 4.9. se muestra el efecto de la suplementación de la dieta con extracto de aceituna y con vitamina E sobre la oxidación proteica, medida por la concentración de grupos carbonilos y tioles a lo largo de la conservación de la carne. La concentración de grupos carbonilos mostró diferencias significativas en cuanto a la dieta suministrada ( $p < 0,001$ ) y al periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), observándose además una interacción significativa ( $p < 0,001$ ) entre ambos factores. La concentración de grupos carbonilos presentó un valor medio inicial (día 0) de 2,00 nmol/mg proteína, sin diferencias significativas entre los grupos estudiados. En el grupo GC disminuyó dicha concentración del día 0 al día 6, aumentando significativamente a los 12 días de conservación. En los grupos G150 y G300 la concentración de grupos carbonilo se mantuvo constante entre 0 y 6 días para luego aumentar entre los 6 y 12 días de conservación, mientras que en los grupos suplementados con vitamina E, GVE y GMIX, la concentración de grupos carbonilos no varió significativamente a lo largo de todo el periodo de conservación. En el día 12, el grupo GMIX con un valor de 1,56 nmol/mg proteína y el grupo GVE con 1,75 nmol/mg proteína, presentaron concentraciones menores que los grupos CG con 3,14 nmol/mg proteína, el G150 con 3,03 nmol/mg proteína y el G300 con 2,84 nmol/mg proteína.

En cuanto a la concentración de grupos tioles, las diferencias no fueron significativas respecto a la dieta ( $p > 0,05$ ), pero si para el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ). La concentración de grupos tioles disminuyó a lo largo de toda la conservación, con una concentración media inicial de 51,5 nmol/mg proteína, disminuyendo a 44,6 nmol/mg proteína el día 6, y a 37,8 nmol/mg proteína el día 12 de conservación.

**Tabla 4.9.** Media  $\pm$  EE de la concentración de grupos carbonilos y grupos tioles de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)						Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX	Media	D	PC	D x PC
<b>Grupos carbonilo</b> (nmol/mg prot.)	0	2,31 $\pm$ 0,16 <sup>x</sup>	2,01 $\pm$ 0,14 <sup>y</sup>	2,10 $\pm$ 0,17 <sup>y</sup>	1,88 $\pm$ 0,16	1,70 $\pm$ 0,15	2,00 $\pm$ 0,07			
	6	1,71 $\pm$ 0,16 <sup>y</sup>	2,14 $\pm$ 0,14 <sup>y</sup>	1,93 $\pm$ 0,17 <sup>y</sup>	1,60 $\pm$ 0,16	1,73 $\pm$ 0,15	1,82 $\pm$ 0,07	***	***	***
	12	3,14 $\pm$ 0,16 <sup>a, x</sup>	3,03 $\pm$ 0,14 <sup>a, x</sup>	2,84 $\pm$ 0,17 <sup>a, x</sup>	1,75 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	1,56 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	2,46 $\pm$ 0,07			
	<i>Media</i>	2,39 $\pm$ 0,09	2,39 $\pm$ 0,08	2,29 $\pm$ 0,10	1,74 $\pm$ 0,09	1,66 $\pm$ 0,08				
<b>Grupos tioles</b> (nmol/mg prot.)	0	51,5 $\pm$ 2,76	52,8 $\pm$ 2,14	51,3 $\pm$ 2,56	51,6 $\pm$ 2,39	50,2 $\pm$ 2,39	51,5 $\pm$ 1,10 <sup>x</sup>			
	6	42,9 $\pm$ 2,39	43,9 $\pm$ 2,14	45,9 $\pm$ 2,56	45,3 $\pm$ 2,56	45,1 $\pm$ 2,39	44,6 $\pm$ 1,08 <sup>y</sup>	NS	***	NS
	12	31,6 $\pm$ 2,39	33,4 $\pm$ 2,14	38,3 $\pm$ 2,76	44,3 $\pm$ 2,39	41,6 $\pm$ 2,26	37,8 $\pm$ 1,07 <sup>z</sup>			
	<i>Media</i>	42,0 $\pm$ 1,46	43,3 $\pm$ 1,24	45,1 $\pm$ 1,52	47,1 $\pm$ 1,42	45,7 $\pm$ 1,36				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . <sup>a,b</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). <sup>x,y,z</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

#### 4.7. COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS

##### 4.7.1. Ácidos grasos saturados

La Tabla 4.10. muestra el efecto de la dieta y del periodo de conservación sobre la composición en ácidos grasos saturados de la carne de cordero conservada en MAP. La proporción de SFA, C15:0, C16:0 y C17:0 estuvo significativamente afectada por el periodo de conservación, no observándose un efecto de la dieta. La proporción de SFA el día 0 fue similar al día 6, aumentando significativamente del 39,6% el día 6 al 40,3% el día 12 de conservación. Mientras que el porcentaje de C16:0 aumentó significativamente del día 0 al 12 de conservación, con una proporción media inicial de 23,3%, pasando a 23,8% tras 12 días de conservación. Los ácidos C14:0 y C18:0 no estuvieron afectados por ninguno de los factores estudiados.

**Tabla 4.10.** Media  $\pm$  EE de la proporción de los ácidos grasos saturados de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
<b>SFA</b>	0	39,89 $\pm$ 0,85	40,56 $\pm$ 0,76	40,56 $\pm$ 0,95	39,89 $\pm$ 0,85	38,33 $\pm$ 0,81	39,73 $\pm$ 0,38 <sup>xy</sup>	NS	*	NS
	6	39,41 $\pm$ 0,85	39,95 $\pm$ 0,76	40,12 $\pm$ 0,91	39,98 $\pm$ 0,88	38,32 $\pm$ 0,81	39,56 $\pm$ 0,38 <sup>y</sup>			
	12	40,28 $\pm$ 0,85	40,83 $\pm$ 0,76	41,77 $\pm$ 0,91	40,57 $\pm$ 0,85	38,05 $\pm$ 0,83	40,31 $\pm$ 0,38 <sup>x</sup>			
	<i>Media</i>	39,9 $\pm$ 0,76	40,5 $\pm$ 0,68	40,7 $\pm$ 0,82	40,1 $\pm$ 0,76	38,2 $\pm$ 0,73				
<b>C14:0</b>	0	2,40 $\pm$ 0,17	2,33 $\pm$ 0,15	2,33 $\pm$ 0,18	2,40 $\pm$ 0,17	2,26 $\pm$ 0,16	2,34 $\pm$ 0,07	NS	NS	NS
	6	2,36 $\pm$ 0,17	2,25 $\pm$ 0,15	2,23 $\pm$ 0,18	2,30 $\pm$ 0,17	2,23 $\pm$ 0,16	2,27 $\pm$ 0,07			
	12	2,28 $\pm$ 0,17	2,33 $\pm$ 0,15	2,35 $\pm$ 0,18	2,41 $\pm$ 0,17	2,19 $\pm$ 0,16	2,31 $\pm$ 0,07			
	<i>Media</i>	2,34 $\pm$ 0,16	2,30 $\pm$ 0,14	2,30 $\pm$ 0,17	2,37 $\pm$ 0,16	2,22 $\pm$ 0,15				
<b>C15:0</b>	0	0,53 $\pm$ 0,05	0,53 $\pm$ 0,04	0,54 $\pm$ 0,05	0,52 $\pm$ 0,05	0,55 $\pm$ 0,05	0,53 $\pm$ 0,02 <sup>y</sup>	NS	**	NS
	6	0,52 $\pm$ 0,05	0,53 $\pm$ 0,04	0,55 $\pm$ 0,05	0,50 $\pm$ 0,05	0,54 $\pm$ 0,05	0,53 $\pm$ 0,02 <sup>y</sup>			
	12	0,54 $\pm$ 0,05	0,56 $\pm$ 0,04	0,58 $\pm$ 0,05	0,53 $\pm$ 0,05	0,54 $\pm$ 0,05	0,55 $\pm$ 0,02 <sup>x</sup>			
	<i>Media</i>	0,53 $\pm$ 0,05	0,54 $\pm$ 0,04	0,56 $\pm$ 0,05	0,52 $\pm$ 0,05	0,54 $\pm$ 0,04				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ . <sup>x,y</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.10. Continuación** Media  $\pm$  EE de la proporción de los ácidos grasos saturados de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
<b>C16:0</b>	0	23,8 $\pm$ 0,56	23,5 $\pm$ 0,50	23,3 $\pm$ 0,61	23,6 $\pm$ 0,56	22,4 $\pm$ 0,53	23,3 $\pm$ 0,25 <sup>y</sup>			
	6	24,0 $\pm$ 0,56	23,9 $\pm$ 0,50	23,8 $\pm$ 0,60	23,5 $\pm$ 0,56	22,8 $\pm$ 0,53	23,6 $\pm$ 0,25 <sup>xy</sup>			
	12	24,3 $\pm$ 0,56	24,3 $\pm$ 0,50	24,3 $\pm$ 0,60	23,7 $\pm$ 0,56	22,5 $\pm$ 0,53	23,8 $\pm$ 0,24 <sup>x</sup>	NS	**	NS
<b>Media</b>		24,0 $\pm$ 0,54	23,9 $\pm$ 0,48	23,8 $\pm$ 0,58	23,6 $\pm$ 0,54	22,6 $\pm$ 0,51				
<b>C17:0</b>	0	2,10 $\pm$ 0,20	2,23 $\pm$ 0,17	2,22 $\pm$ 0,21	2,06 $\pm$ 0,20	2,17 $\pm$ 0,18	2,15 $\pm$ 0,09 <sup>x</sup>			
	6	1,99 $\pm$ 0,20	2,15 $\pm$ 0,17	2,17 $\pm$ 0,21	1,97 $\pm$ 0,20	2,08 $\pm$ 0,18	2,07 $\pm$ 0,09 <sup>y</sup>			
	12	2,12 $\pm$ 0,20	2,27 $\pm$ 0,17	2,26 $\pm$ 0,21	2,11 $\pm$ 0,20	2,09 $\pm$ 0,18	2,17 $\pm$ 0,09 <sup>x</sup>	NS	***	NS
<b>Media</b>		2,07 $\pm$ 0,19	2,22 $\pm$ 0,17	2,22 $\pm$ 0,21	2,04 $\pm$ 0,19	2,11 $\pm$ 0,18				
<b>C18:0</b>	0	10,7 $\pm$ 0,56	11,7 $\pm$ 0,49	11,3 $\pm$ 0,62	10,9 $\pm$ 0,56	10,6 $\pm$ 0,52	11,0 $\pm$ 0,25			
	6	10,2 $\pm$ 0,56	10,9 $\pm$ 0,49	11,3 $\pm$ 0,59	11,5 $\pm$ 0,58	10,3 $\pm$ 0,52	10,8 $\pm$ 0,25			
	12	10,8 $\pm$ 0,56	11,1 $\pm$ 0,49	12,0 $\pm$ 0,59	11,5 $\pm$ 0,56	11,5 $\pm$ 0,54	11,2 $\pm$ 0,25	NS	NS	NS
<b>Media</b>		10,6 $\pm$ 0,46	11,2 $\pm$ 0,42	11,5 $\pm$ 0,51	11,3 $\pm$ 0,47	10,5 $\pm$ 0,44				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . <sup>x,y</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

#### 4.7.2. Ácidos grasos monoinsaturados

La Tabla 4.11. muestra el efecto de la suplementación de la dieta en la evolución de la composición en ácidos grasos monoinsaturados de la carne de cordero conservada en MAP. En la proporción de MUFA se observó un efecto significativo de la dieta suministrada ( $p < 0,001$ ) y del periodo de conservación ( $p < 0,05$ ). La proporción de MUFA fue menor en el grupo GMIX, con un valor de 43,3%, que en los grupos GC y G150, con proporciones de 47,5% y 48,4% respectivamente. En cuanto al periodo de conservación, el día 6 se registró una media de 45,9% aumentando la proporción a un 46,8% el día 12 de conservación.

El periodo de conservación ( $p < 0,001$ ) y la interacción entre dieta y periodo de conservación ( $p < 0,05$ ) fueron significativos para la proporción de C17:1. Así en el grupo G150 el porcentaje de C17:1 aumentó del día 6 con 0,96% al día 12 con 1,03%, y en el grupo GVE del día 6 con 0,82% al día 12 con 0,91%. En cambio en el grupo GMIX disminuyó el porcentaje de C17:1 del día 0 (0,88%) al día 6 (0,80%) de conservación.

En la proporción de C18:1 se observó un efecto significativo de la dieta ( $p < 0,01$ ) y del periodo de conservación ( $p < 0,05$ ). La carne de los corderos del grupo GMIX, con un 40,9%, tuvo menor proporción de C18:1 que la de los corderos de los grupos GC y G150 con porcentajes de 44,8 y 45,6% respectivamente. En cuanto al efecto del periodo de conservación, la proporción de C18:1 aumentó del día 6 al 12 de conservación, del 43,3% al 44,1%.

**Tabla 4.11.** Media  $\pm$  EE de la proporción de los ácidos grasos monoinsaturados de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
<b>MUFA</b>	0	47,0 $\pm$ 0,94	47,6 $\pm$ 0,84	46,6 $\pm$ 1,03	46,0 $\pm$ 0,94	43,8 $\pm$ 0,88	46,2 $\pm$ 0,41 <sup>xy</sup>			
	6	47,2 $\pm$ 0,94	48,1 $\pm$ 0,84	46,3 $\pm$ 1,01	44,8 $\pm$ 0,96	42,9 $\pm$ 0,88	45,9 $\pm$ 0,41 <sup>y</sup>			
	12	48,3 $\pm$ 0,94	49,6 $\pm$ 0,84	47,1 $\pm$ 1,01	45,6 $\pm$ 0,94	43,2 $\pm$ 0,91	46,8 $\pm$ 0,41 <sup>x</sup>	***	*	NS
	<b>Media</b>	47,5 $\pm$ 0,85 <sup>a</sup>	48,4 $\pm$ 0,76 <sup>a</sup>	46,7 $\pm$ 0,91 <sup>ab</sup>	45,5 $\pm$ 0,85 <sup>ab</sup>	43,3 $\pm$ 0,80 <sup>b</sup>				
<b>C16:1</b>	0	1,74 $\pm$ 0,09	1,78 $\pm$ 0,08	1,69 $\pm$ 0,09	1,71 $\pm$ 0,09	1,60 $\pm$ 0,08	1,71 $\pm$ 0,04			
	6	1,73 $\pm$ 0,09	1,75 $\pm$ 0,08	1,68 $\pm$ 0,09	1,67 $\pm$ 0,09	1,58 $\pm$ 0,08	1,68 $\pm$ 0,04			
	12	1,76 $\pm$ 0,09	1,80 $\pm$ 0,08	1,74 $\pm$ 0,09	1,74 $\pm$ 0,09	1,59 $\pm$ 0,08	1,73 $\pm$ 0,04	NS	NS	NS
	<b>Media</b>	1,74 $\pm$ 0,08	1,78 $\pm$ 0,07	1,70 $\pm$ 0,09	1,71 $\pm$ 0,08	1,59 $\pm$ 0,08				
<b>C17:1</b>	0	0,91 $\pm$ 0,09	1,00 $\pm$ 0,08 <sup>xy</sup>	1,00 $\pm$ 0,10	0,87 $\pm$ 0,09 <sup>xy</sup>	0,88 $\pm$ 0,09 <sup>x</sup>	0,93 $\pm$ 0,04			
	6	0,87 $\pm$ 0,09	0,96 $\pm$ 0,08 <sup>y</sup>	1,00 $\pm$ 0,10	0,82 $\pm$ 0,09 <sup>y</sup>	0,80 $\pm$ 0,09 <sup>y</sup>	0,89 $\pm$ 0,04			
	12	0,91 $\pm$ 0,09	1,03 $\pm$ 0,08 <sup>x</sup>	1,01 $\pm$ 0,10	0,91 $\pm$ 0,09 <sup>x</sup>	0,81 $\pm$ 0,09 <sup>xy</sup>	0,93 $\pm$ 0,04	NS	***	*
	<b>Media</b>	0,89 $\pm$ 0,09	1,00 $\pm$ 0,08	1,01 $\pm$ 0,10	0,86 $\pm$ 0,09	0,83 $\pm$ 0,08				
<b>C18:1</b>	0	44,3 $\pm$ 0,92	44,7 $\pm$ 0,82	43,8 $\pm$ 1,02	43,4 $\pm$ 0,92	41,2 $\pm$ 0,87	43,5 $\pm$ 0,41 <sup>xy</sup>			
	6	44,6 $\pm$ 0,92	45,4 $\pm$ 0,82	43,6 $\pm$ 0,99	42,3 $\pm$ 0,99	40,5 $\pm$ 0,87	43,3 $\pm$ 0,41 <sup>y</sup>			
	12	45,6 $\pm$ 0,92	46,8 $\pm$ 0,82	44,4 $\pm$ 0,99	42,9 $\pm$ 0,92	40,8 $\pm$ 0,89	44,1 $\pm$ 0,41 <sup>x</sup>	**	*	NS
	<b>Media</b>	44,8 $\pm$ 0,83 <sup>a</sup>	45,6 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>	43,9 $\pm$ 0,89 <sup>ab</sup>	42,9 $\pm$ 0,79 <sup>ab</sup>	40,9 $\pm$ 0,79 <sup>b</sup>				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . <sup>a,b</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). <sup>x,y</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

#### 4.7.3. Ácidos grasos poliinsaturados

La Tabla 4.12. muestra el efecto de la suplementación de la dieta en la evolución de la composición en ácidos grasos poliinsaturados de la carne conservada en MAP. En el porcentaje de PUFA se observó un efecto significativo de la suplementación de la dieta ( $p < 0,001$ ) y del periodo de conservación ( $p < 0,001$ ). El grupo GMIX presentó una proporción más alta de PUFA, con una media de un 18,3%, que los grupos GC, G150 y G300 con 12,6%, 11,1% y 12,6% respectivamente. En cuanto al efecto del periodo de conservación, la proporción de PUFA fue menor el día 12 de conservación.

La proporción de ácidos grasos  $n6$  estuvo significativamente afectada por la dieta ( $p < 0,001$ ) y por el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), sin embargo la interacción entre estos factores no fue significativa ( $p > 0,05$ ). El grupo GMIX con un 13,3% de ácidos grasos  $n6$ , presentó el porcentaje más alto comparado con los grupos GC, G150 y G300 con 9,00%, 8,16% y 9,31% respectivamente. En cuanto al periodo de conservación, se observó una disminución de los ácidos grasos  $n6$ , pasando de 10,1 % y 10,6% los días 0 y 6 de conservación respectivamente, a una proporción media de 9,39% el día 12 de conservación.

En el caso del ácido linoleico (C18:2 $n6$ ) se observó un efecto significativo de la dieta suministrada ( $p < 0,001$ ) y del periodo de conservación ( $p < 0,05$ ). Los corderos del grupo GMIX registraron una mayor proporción de ácido linoleico con un valor medio de 9,68%, comparado con los grupos GC con 6,69%, G150 con 5,86% y G300 con 6,85% de media. En cuanto al periodo de conservación, se observó que la proporción de este ácido graso disminuyó de 7,65% a los 6 días a 6,96% a los 12 días de conservación.

El ácido eicosatrienoico (C20:3 $n6$ ) solo estuvo significativamente afectado por el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), de manera que la concentración inicial (día 0) fue de 0,22% aumentando significativamente su valor medio a 0,24% el día 6 de conservación, y disminuyendo a 0,20% en el día 12 de conservación.

En el porcentaje de ácido araquidónico (C20:4 $n6$ ) se observó un efecto significativo de la dieta suministrada ( $p < 0,01$ ), y del periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), siendo la interacción entre ambos factores ( $p < 0,05$ ) también significativa. En los grupos G150 y G300 la proporción de C20:4 $n6$  disminuyó del día 6 al día 12 de conservación, mientras que en el

resto de grupos no se apreció este efecto. Además, en el día 6 de conservación, la proporción de C20:4n6 fue superior en el grupo GMIX que en los GC y G150 y en el día 12 que en los grupos GC, G150 y G300.

La proporción de los ácidos grasos n3 estuvo afectada significativamente por la dieta suministrada ( $p < 0,001$ ) y el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), encontrándose también una interacción entre los dos factores ( $p < 0,05$ ). En los grupos GC, G150 y G300 la proporción de ácidos grasos n3 disminuyó a lo largo de la conservación, manteniéndose constante en los grupos suplementados con vitamina E (GVE y GMIX). Además la proporción de n3 fue más elevada en el grupo GMIX, y menor en el grupo G150 en todos los tiempos estudiados.

En la proporción del ácido linolénico (C18:3n3) se observó un efecto significativo de la dieta ( $p < 0,001$ ) y del periodo de conservación ( $p < 0,05$ ). El grupo GMIX con un 1,31% registró el mayor contenido de ácido linolénico comparado con los grupos G150 y G300 con 0,76% y 0,95% respectivamente. Los grupos GC y GVE presentaron proporciones de este ácido graso con 0,99% y 1,03% respectivamente. La proporción de C18:3n3 disminuyó en todo el periodo de conservación, pasando de un 1,04% en el día 0 a un 0,96% en el día 12 de conservación.

En cuanto al ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5n3) se observó un efecto significativo de la dieta suministrada ( $p < 0,001$ ) y del periodo de conservación ( $p < 0,001$ ). La concentración de EPA fue mayor en el grupo GMIX comparado con los grupos GC, G150 y G300. Con respecto al periodo de conservación la proporción de EPA disminuyó de los días 0 y 6 de conservación con proporciones de 0,70% y 0,71% respectivamente, a 0,58% el día 12 de conservación.

En los ácidos docosapentaenoico (DPA) (C22:5n3) y docosahexaenoico (DHA, C22:6n3) se observó un efecto significativo de la dieta, del periodo de conservación, así como una interacción significativa entre ambos factores. Las proporciones de DPA y DHA en los grupos GC, G150 y G300 disminuyeron a partir del día 6 de conservación, mientras que en los grupos suplementados con vitamina E, GVE y GMIX, permanecieron constantes a lo largo de la conservación. Así mismo, el día 6 de conservación, el grupo GMIX presentó mayor proporción de DHA (1,78%), que el grupo G150 (1,01%), y el día 12 el grupo GMIX presentó mayor concentración de DPA y de DHA que los grupos GC, G150 y G300.

**Tabla 4.12.** Media  $\pm$  EE de la proporción de los ácidos grasos poliinsaturados de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
<b>PUFA</b>	0	13,1 $\pm$ 1,22	11,9 $\pm$ 1,09	12,3 $\pm$ 1,34	14,2 $\pm$ 1,22	17,9 $\pm$ 1,15	14,1 $\pm$ 0,54 <sup>x</sup>			
	6	13,4 $\pm$ 1,22	11,9 $\pm$ 1,09	13,5 $\pm$ 1,31	15,2 $\pm$ 1,25	18,8 $\pm$ 1,15	14,6 $\pm$ 0,54 <sup>x</sup>			
	12	11,4 $\pm$ 1,22	9,53 $\pm$ 1,09	11,4 $\pm$ 1,31	13,4 $\pm$ 1,22	18,4 $\pm$ 1,15	12,3 $\pm$ 0,53 <sup>y</sup>	***	***	NS
	<i>Media</i>	12,6 $\pm$ 1,12 <sup>b</sup>	11,1 $\pm$ 1,01 <sup>b</sup>	12,6 $\pm$ 1,21 <sup>b</sup>	14,4 $\pm$ 1,13 <sup>ab</sup>	18,3 $\pm$ 1,06 <sup>a</sup>				
<b>n6</b>	0	9,15 $\pm$ 0,92	8,45 $\pm$ 0,83	9,61 $\pm$ 1,01	10,1 $\pm$ 0,92	13,0 $\pm$ 0,87	10,1 $\pm$ 0,41 <sup>x</sup>			
	6	9,45 $\pm$ 0,92	8,86 $\pm$ 0,83	10,0 $\pm$ 0,99	10,8 $\pm$ 0,94	13,6 $\pm$ 0,87	10,6 $\pm$ 0,41 <sup>x</sup>			
	12	8,39 $\pm$ 0,92	7,19 $\pm$ 0,83	8,28 $\pm$ 0,99	9,81 $\pm$ 0,92	13,3 $\pm$ 0,89	9,39 $\pm$ 0,41 <sup>y</sup>	***	***	NS
	<i>Media</i>	9,00 $\pm$ 0,86 <sup>b</sup>	8,16 $\pm$ 0,77 <sup>b</sup>	9,31 $\pm$ 0,92 <sup>b</sup>	10,2 $\pm$ 0,86 <sup>ab</sup>	13,3 $\pm$ 0,81 <sup>a</sup>				
<b>C18:2n6</b>	0	6,73 $\pm$ 0,67	5,88 $\pm$ 0,60	6,93 $\pm$ 0,73	7,29 $\pm$ 0,67	9,53 $\pm$ 0,63	7,27 $\pm$ 0,30 <sup>xy</sup>			
	6	7,03 $\pm$ 0,67	6,32 $\pm$ 0,60	7,28 $\pm$ 0,71	7,75 $\pm$ 0,68	9,85 $\pm$ 0,63	7,65 $\pm$ 0,29 <sup>x</sup>			
	12	6,32 $\pm$ 0,67	5,40 $\pm$ 0,60	6,33 $\pm$ 0,71	7,09 $\pm$ 0,67	9,68 $\pm$ 0,64	6,96 $\pm$ 0,29 <sup>y</sup>	***	**	NS
	<i>Media</i>	6,69 $\pm$ 0,62 <sup>b</sup>	5,86 $\pm$ 0,56 <sup>b</sup>	6,85 $\pm$ 0,67 <sup>b</sup>	7,38 $\pm$ 0,63 <sup>ab</sup>	9,68 $\pm$ 0,59 <sup>a</sup>				
<b>C20:3n6</b>	0	0,20 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,02	0,24 $\pm$ 0,02	0,22 $\pm$ 0,01 <sup>y</sup>			
	6	0,21 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,02	0,24 $\pm$ 0,01 <sup>x</sup>			
	12	0,18 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,02	0,22 $\pm$ 0,02	0,26 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,01 <sup>y</sup>	NS	***	NS
	<i>Media</i>	0,20 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,02	0,24 $\pm$ 0,02	0,25 $\pm$ 0,02				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . <sup>a,b,c</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ).

<sup>x,y</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.12. Continuación.** Media  $\pm$  EE de la proporción de los ácidos grasos poliinsaturados de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
<b>C20:4n6</b>	0	1,94 $\pm$ 0,25	2,05 $\pm$ 0,23 <sup>x</sup>	2,12 $\pm$ 0,28 <sup>x</sup>	2,22 $\pm$ 0,25	2,89 $\pm$ 0,24	2,24 $\pm$ 0,11			
	6	1,89 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	1,96 $\pm$ 0,23 <sup>x,b</sup>	2,15 $\pm$ 0,30 <sup>x,ab</sup>	2,45 $\pm$ 0,26 <sup>ab</sup>	3,09 $\pm$ 0,24 <sup>a</sup>	2,31 $\pm$ 0,11			
	12	1,57 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	1,34 $\pm$ 0,23 <sup>y,b</sup>	1,47 $\pm$ 0,27 <sup>y,b</sup>	2,18 $\pm$ 0,25 <sup>ab</sup>	3,00 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	1,91 $\pm$ 0,11	**	***	*
	<i>Media</i>	1,80 $\pm$ 0,23	1,78 $\pm$ 0,21	1,91 $\pm$ 0,25	2,29 $\pm$ 0,23	2,99 $\pm$ 0,22				
<b>n3</b>	0	3,61 $\pm$ 0,35 <sup>x,ab</sup>	3,02 $\pm$ 0,32 <sup>x, b</sup>	3,31 $\pm$ 0,39 <sup>x, ab</sup>	3,80 $\pm$ 0,35 <sup>ab</sup>	4,66 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	3,68 $\pm$ 0,16			
	6	3,53 $\pm$ 0,35 <sup>x, ab</sup>	2,73 $\pm$ 0,32 <sup>x, b</sup>	3,17 $\pm$ 0,38 <sup>xy, b</sup>	4,07 $\pm$ 0,36 <sup>ab</sup>	4,94 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	3,69 $\pm$ 0,16			
	12	2,66 $\pm$ 0,35 <sup>y, bc</sup>	2,00 $\pm$ 0,32 <sup>y, c</sup>	2,43 $\pm$ 0,38 <sup>y, bc</sup>	3,71 $\pm$ 0,35 <sup>ab</sup>	4,85 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>	3,13 $\pm$ 0,16	***	***	*
	<i>Media</i>	3,27 $\pm$ 0,32	2,58 $\pm$ 0,29	2,97 $\pm$ 0,34	3,86 $\pm$ 0,32	4,82 $\pm$ 0,30				
<b>C18:3n3</b>	0	1,05 $\pm$ 0,09	0,85 $\pm$ 0,08	1,03 $\pm$ 0,10	0,98 $\pm$ 0,09	1,29 $\pm$ 0,09	1,04 $\pm$ 0,04 <sup>x</sup>			
	6	1,02 $\pm$ 0,09	0,74 $\pm$ 0,08	0,94 $\pm$ 0,10	1,09 $\pm$ 0,09	1,31 $\pm$ 0,09	1,02 $\pm$ 0,04 <sup>xy</sup>			
	12	0,89 $\pm$ 0,09	0,69 $\pm$ 0,08	0,89 $\pm$ 0,10	1,01 $\pm$ 0,09	1,33 $\pm$ 0,09	0,96 $\pm$ 0,04 <sup>y</sup>	***	*	NS
	<i>Media</i>	0,99 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	0,76 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	0,95 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	1,03 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	1,31 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>				
<b>C20:5n3</b>	0	0,61 $\pm$ 0,09	0,54 $\pm$ 0,08	0,54 $\pm$ 0,10	0,75 $\pm$ 0,09	1,04 $\pm$ 0,09	0,70 $\pm$ 0,04 <sup>x</sup>			
	6	0,60 $\pm$ 0,09	0,48 $\pm$ 0,08	0,56 $\pm$ 0,10	0,78 $\pm$ 0,10	1,11 $\pm$ 0,09	0,71 $\pm$ 0,04 <sup>x</sup>			
	12	0,41 $\pm$ 0,09	0,31 $\pm$ 0,08	0,38 $\pm$ 0,10	0,71 $\pm$ 0,09	1,08 $\pm$ 0,09	0,58 $\pm$ 0,04 <sup>y</sup>	***	***	NS
	<i>Media</i>	0,54 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	0,44 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	0,49 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	0,75 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	1,08 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . <sup>a,b,c</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). <sup>x,y</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.12. Continuación.** Media  $\pm$  EE de la proporción de los ácidos grasos poliinsaturados de la carne en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
<b>C22:5n3</b>	0	0,56 $\pm$ 0,06 <sup>xy</sup>	0,51 $\pm$ 0,05 <sup>x</sup>	0,55 $\pm$ 0,07 <sup>x</sup>	0,61 $\pm$ 0,06	0,67 $\pm$ 0,06	0,58 $\pm$ 0,03			
	6	0,58 $\pm$ 0,06 <sup>x</sup>	0,50 $\pm$ 0,05 <sup>x</sup>	0,54 $\pm$ 0,06 <sup>x</sup>	0,66 $\pm$ 0,06	0,73 $\pm$ 0,06	0,60 $\pm$ 0,03			
	12	0,45 $\pm$ 0,06 <sup>y,ab</sup>	0,36 $\pm$ 0,05 <sup>y,b</sup>	0,39 $\pm$ 0,06 <sup>y,b</sup>	0,59 $\pm$ 0,06 <sup>ab</sup>	0,70 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,50 $\pm$ 0,03	*	***	*
	<i>Media</i>	0,53 $\pm$ 0,05	0,46 $\pm$ 0,05	0,50 $\pm$ 0,06	0,62 $\pm$ 0,05	0,70 $\pm$ 0,05				
<b>C22:6n3</b>	0	1,39 $\pm$ 0,15 <sup>x</sup>	1,12 $\pm$ 0,13 <sup>x</sup>	1,20 $\pm$ 0,16 <sup>x</sup>	1,46 $\pm$ 0,15	1,65 $\pm$ 0,14	1,36 $\pm$ 0,07			
	6	1,35 $\pm$ 0,15 <sup>x,ab</sup>	1,01 $\pm$ 0,13 <sup>x,b</sup>	1,14 $\pm$ 0,16 <sup>x,ab</sup>	1,54 $\pm$ 0,15 <sup>ab</sup>	1,78 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	1,36 $\pm$ 0,07			
	12	0,92 $\pm$ 0,15 <sup>y,bc</sup>	0,64 $\pm$ 0,13 <sup>y,c</sup>	0,78 $\pm$ 0,16 <sup>y,bc</sup>	1,40 $\pm$ 0,15 <sup>ab</sup>	1,74 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	1,10 $\pm$ 0,07	***	***	**
	<i>Media</i>	1,22 $\pm$ 0,13	0,92 $\pm$ 0,12	1,04 $\pm$ 0,14	1,47 $\pm$ 0,14	1,73 $\pm$ 0,13				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . <sup>a,b,c</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). <sup>x,y</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

#### 4.7.4. Relaciones e índices entre los ácidos grasos

El efecto de la suplementación de la dieta y del periodo de conservación en la evolución de las relaciones e índices entre los ácidos grasos se presenta en la Tabla 4.13. La relación n6/n3 estuvo significativamente afectada por la dieta suministrada ( $p < 0,05$ ) y por el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), observándose también una interacción entre ambos factores ( $p < 0,001$ ). En los grupos GC, G150 y G300 la relación n6/n3 aumentó con la conservación, mientras que en los grupos GVE y GMIX no varió significativamente, así, el día 12 los grupos suplementados con vitamina E presentaron la relación n6/n3 más baja con un valor medio de 2,73 y los grupos G150 y G300 la más alta con valores medios de 3,67 y 3,57 respectivamente.

Los ratios PUFA/SFA y PUFA/SFA2 difirieron significativamente en relación a la dieta ( $p < 0,001$ ) y al periodo de conservación ( $p < 0,001$ ). El grupo GMIX tuvo los mayores ratios, con valores medios de 0,48 para PUFA/SFA, comparado con los grupos GC, G150 y G300 cuyas medias fueron de 0,32, 0,28 y 0,32 respectivamente. Por otro lado, estas relaciones fueron menores el día 12 que los días 0 y 6.

En relación al índice de aterogenicidad (ATT) y a los ácidos grasos deseables (DFA) no se observó efecto ni de la dieta ni del periodo de conservación, así como tampoco de la interacción entre ambos factores.

**Tabla 4.13.** Media  $\pm$  EE de las relaciones entre los ácidos grasos, el índice de aterogenicidad (ATT) y el índice de ácidos grasos deseables (DFA), de la carne de los corderos en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
<b>n6/n3</b>	0	2,58 $\pm$ 0,18 <sup>y</sup>	2,93 $\pm$ 0,16 <sup>y</sup>	2,98 $\pm$ 0,20 <sup>y</sup>	2,76 $\pm$ 0,18	2,80 $\pm$ 0,17	2,81 $\pm$ 0,08			
	6	2,72 $\pm$ 0,18 <sup>y</sup>	3,36 $\pm$ 0,16 <sup>x</sup>	3,18 $\pm$ 0,19 <sup>y</sup>	2,71 $\pm$ 0,18	2,79 $\pm$ 0,17	2,95 $\pm$ 0,08			
	12	3,13 $\pm$ 0,18 <sup>x,abc</sup>	3,67 $\pm$ 0,16 <sup>x,a</sup>	3,57 $\pm$ 0,19 <sup>x,ab</sup>	2,70 $\pm$ 0,18 <sup>c</sup>	2,76 $\pm$ 0,17 <sup>bc</sup>	3,17 $\pm$ 0,08	*	***	***
<b>Media</b>		2,81 $\pm$ 0,17	3,32 $\pm$ 0,15	3,24 $\pm$ 0,18	2,72 $\pm$ 0,17	2,78 $\pm$ 0,16				
<b>PUFA/SFA</b>	0	0,33 $\pm$ 0,04	0,30 $\pm$ 0,03	0,35 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,04	0,47 $\pm$ 0,03	0,36 $\pm$ 0,02 <sup>x</sup>			
	6	0,34 $\pm$ 0,04	0,31 $\pm$ 0,03	0,35 $\pm$ 0,04	0,39 $\pm$ 0,04	0,49 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,02 <sup>x</sup>			
	12	0,29 $\pm$ 0,04	0,24 $\pm$ 0,03	0,27 $\pm$ 0,04	0,35 $\pm$ 0,04	0,48 $\pm$ 0,04	0,32 $\pm$ 0,02 <sup>y</sup>	***	***	NS
<b>Media</b>		0,32 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,28 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,32 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,37 $\pm$ 0,03 <sup>ab</sup>	0,48 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>				
<b>PUFA/SFA2</b>	0	0,46 $\pm$ 0,05	0,42 $\pm$ 0,05	0,47 $\pm$ 0,06	0,50 $\pm$ 0,05	0,65 $\pm$ 0,05	0,50 $\pm$ 0,02 <sup>x</sup>			
	6	0,46 $\pm$ 0,05	0,42 $\pm$ 0,05	0,48 $\pm$ 0,05	0,54 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,05	0,52 $\pm$ 0,02 <sup>x</sup>			
	12	0,39 $\pm$ 0,05	0,33 $\pm$ 0,05	0,38 $\pm$ 0,05	0,49 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,05	0,45 $\pm$ 0,02 <sup>y</sup>	***	***	NS
<b>Media</b>		0,44 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,39 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,44 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,51 $\pm$ 0,05 <sup>ab</sup>	0,66 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ . n6: C18:2n6+C20:3n6+C20:4n6; n3: C18:3n3+C20:5n3+C22:5n3+C22:6n3. PUFA/SFA2: PUFA/(SFA-C18:0); ATT (índice de aterogenicidad):(C20:3n6+C20:5n3)/C20:4n6; DFA (ácidos grasos deseables):PUFA+MUFA+C18:0. <sup>a,b</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). <sup>x,y</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.13. Continuación.** Media  $\pm$  EE de las relaciones entre los ácidos grasos, el índice de aterogenicidad (ATT) y el índice de ácidos grasos deseables (DFA), de la carne de los corderos en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)					Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX		D	PC	D x PC
ATT	0	0,42 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,03	0,36 $\pm$ 0,04	0,45 $\pm$ 0,04	0,47 $\pm$ 0,04	0,41 $\pm$ 0,02	NS	NS	NS
	6	0,43 $\pm$ 0,04	0,35 $\pm$ 0,03	0,38 $\pm$ 0,04	0,44 $\pm$ 0,04	0,46 $\pm$ 0,04	0,41 $\pm$ 0,02			
	12	0,42 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,04	0,39 $\pm$ 0,05	0,44 $\pm$ 0,04	0,47 $\pm$ 0,04	0,42 $\pm$ 0,01			
Media		0,42 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,03	0,37 $\pm$ 0,04	0,44 $\pm$ 0,04	0,47 $\pm$ 0,04				
DFA	0	70,9 $\pm$ 0,77	71,1 $\pm$ 0,69	71,3 $\pm$ 0,89	71,1 $\pm$ 0,77	72,3 $\pm$ 0,73	71,3 $\pm$ 0,35	NS	NS	NS
	6	70,8 $\pm$ 0,77	70,9 $\pm$ 0,69	71,0 $\pm$ 0,82	71,5 $\pm$ 0,82	72,0 $\pm$ 0,73	71,2 $\pm$ 0,34			
	12	70,5 $\pm$ 0,77	70,3 $\pm$ 0,69	70,2 $\pm$ 0,82	70,9 $\pm$ 0,77	72,1 $\pm$ 0,77	70,8 $\pm$ 0,34			
Media		70,7 $\pm$ 0,45	70,8 $\pm$ 0,40	70,8 $\pm$ 0,49	71,2 $\pm$ 0,46	72,1 $\pm$ 0,43				

GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ . n6: C18:2n6+C20:3n6+C20:4n6; n3: C18:3n3+C20:5n3+C22:5n3+C22:6n3. PUFA/SFA2: PUFA/(SFA-C18:0); ATT (índice de aterogenicidad):(C20:3n6+C20:5n3)/C20:4n6; DFA (ácidos grasos deseables):PUFA+MUFA+C18:0. a,b Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ). x,y Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

#### 4.8. ANÁLISIS SENSORIAL

Los resultados del análisis sensorial de la carne de cordero de los diferentes grupos estudiados respecto a la dieta y al periodo de conservación se muestran en la Tabla 4.14. En la valoración del olor a cordero se observó un efecto significativo de la dieta ( $p < 0,01$ ) y del periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), encontrándose además una interacción significativa entre ambos factores ( $p < 0,01$ ). Inicialmente todos los grupos mostraron una puntuación similar de olor a cordero, con un valor medio de 4,46. En los grupos GC, G150 y G300 el olor a cordero disminuyó del día 0 al día 6 de conservación, mientras que en los grupos GVE y GMIX se mantuvo constante. De manera que a día 6 el grupo GVE con 4,20 puntos, tuvo la mayor puntuación de olor a cordero comparada con los grupos GC, G150 y G300 con medias de 2,57, 3,02 y 3,15 respectivamente.

En cuanto al olor a rancio no se encontró un efecto significativo de la dieta ( $p > 0,05$ ), ni del periodo de conservación ( $p > 0,05$ ), tampoco la interacción entre ambos factores fue significativa ( $p > 0,05$ ). En cambio, la dieta ( $p < 0,001$ ) y el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ) afectaron a la valoración del olor extraño, observándose además una interacción significativa entre ambos factores ( $p < 0,001$ ). En los grupos GC, G150 y G300 la puntuación para el olor extraño aumentó del día 0 al día 6 de conservación, mientras que en los suplementados con vitamina E, GVE y GMIX, dicha puntuación no varió significativamente durante la conservación. Asimismo, se observó que los grupos GVE y GMIX obtuvieron las puntuaciones más bajas el día 6 de conservación, con valores medios de 1,04 puntos y 1,67 puntos.

En el caso de la terneza de la carne, la dieta ( $p < 0,001$ ) no tuvo ningún efecto en este parámetro, mientras que el periodo de conservación ( $p < 0,05$ ) y la interacción entre ambos factores ( $p < 0,05$ ) fueron significativos. En los grupos GVE y GMIX la puntuación de la terneza aumentó del día 0 al 6 de conservación, mientras que en los grupos GC, G150 y G300 no varió.

En cuanto a la valoración de la jugosidad, no se encontró un efecto significativo de la dieta ( $p > 0,05$ ), ni del periodo de conservación ( $p > 0,05$ ), y tampoco de la interacción entre ambos factores ( $p > 0,05$ ). Mientras que la fibrosidad solo estuvo afectada por el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), disminuyendo con el mismo.

En la valoración de la masticabilidad, se observó un efecto significativo del periodo de conservación ( $p < 0,001$ ), encontrándose además una interacción significativa entre la dieta y el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ). En los grupos GC, GVE y GMIX las puntuaciones medias disminuyeron del día 0 al día 6 de conservación, permaneciendo constantes en los grupos G150 y G300.

En relación con el flavor a cordero de la carne, se observó un efecto significativo de la dieta ( $p < 0,01$ ) y el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ). También se observó una interacción significativa entre ambos factores ( $p < 0,01$ ). En los grupos GC, G150 y G300 las puntuaciones disminuyeron del día 0 al día 6 de conservación, permaneciendo constantes en los grupos GVE y GMIX. Por otro lado, a día 6 de conservación, se observó que el grupo GVE presentó un valor más alto y los grupos GC y G150 los valores más bajos.

La puntuación del flavor a rancio estuvo significativamente afectada por la dieta ( $p < 0,01$ ), por el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ) y por la interacción entre ambos factores ( $p < 0,01$ ). En los grupos GC y G150 la puntuación del flavor a rancio aumentó del día 0 al día 6 de conservación, mientras que en el resto de grupos esta puntuación no varió significativamente. Por ello, el día 6 de conservación se observó una menor puntuación a flavor a rancio en los grupos GVE y GMIX con 0,30 y 0,39 puntos respectivamente, que en los grupos GC y G150 con 1,08 y 1,22 puntos respectivamente.

Sobre el flavor extraño se observó un efecto significativo de la dieta ( $p < 0,001$ ), el periodo de conservación ( $p < 0,001$ ) y de la interacción entre estos dos factores ( $p < 0,001$ ). De forma que en los grupos GC, G150 y G300 la puntuación de flavor extraño aumentó del día 0 al día 6 de conservación, en cambio en los grupos suplementados con vitamina E (GVE y GMIX) dicha puntuación no varió significativamente con la conservación. El día 6 de conservación, los grupos suplementados con vitamina E, presentaron menor puntuación a flavor extraño que los otros tres grupos.

En la apreciación global se encontró efecto significativo de la dieta ( $p < 0,001$ ), del periodo de conservación ( $p < 0,001$ ) y de la interacción entre estos dos factores ( $p < 0,001$ ). En los grupos GC, G150 y G300 la puntuación de la apreciación global disminuyó del día 0 al día 6 de conservación, no variando significativamente en los grupos GVE y GMIX. Así se observó que el día 6 de conservación, el grupo GVE con 5,05 puntos y el grupo GMIX con 4,57 puntos presentaron las puntuaciones más altas de apreciación global en relación a los grupos GC, G150 y G300.

**Tabla 4.14.** Media  $\pm$  EE de las características sensoriales<sup>1</sup> de la carne de los corderos en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)						Media	Sign.		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX	D		PC	D x PC	
<b>Olor cordero</b>	0	4,42 $\pm$ 0,21 <sup>x</sup>	4,54 $\pm$ 0,23 <sup>x</sup>	4,35 $\pm$ 0,21 <sup>x</sup>	4,42 $\pm$ 0,21	4,57 $\pm$ 0,21	4,46 $\pm$ 0,09	**	***	**	
	6	2,57 $\pm$ 0,21 <sup>y,c</sup>	3,02 $\pm$ 0,23 <sup>y,bc</sup>	3,15 $\pm$ 0,21 <sup>y,bc</sup>	4,20 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	3,81 $\pm$ 0,21 <sup>ab</sup>	3,34 $\pm$ 0,09				
	<i>Media</i>	3,49 $\pm$ 0,14	3,78 $\pm$ 0,16	3,74 $\pm$ 0,14	4,31 $\pm$ 0,14	4,19 $\pm$ 0,14					
<b>Olor rancio</b>	0	0,47 $\pm$ 0,12	0,44 $\pm$ 1,35	0,51 $\pm$ 0,12	0,47 $\pm$ 1,22	0,31 $\pm$ 0,12	0,44 $\pm$ 0,06	NS	NS	NS	
	6	0,67 $\pm$ 0,12	0,85 $\pm$ 0,14	0,54 $\pm$ 0,12	0,25 $\pm$ 0,12	0,41 $\pm$ 0,12	0,55 $\pm$ 0,06				
	<i>Media</i>	0,56 $\pm$ 0,08	0,65 $\pm$ 0,09	0,52 $\pm$ 0,08	0,36 $\pm$ 0,08	0,35 $\pm$ 0,08					
<b>Olor extraño</b>	0	1,67 $\pm$ 0,26 <sup>y</sup>	1,69 $\pm$ 0,29 <sup>y</sup>	1,68 $\pm$ 0,26 <sup>y</sup>	1,31 $\pm$ 0,26	1,22 $\pm$ 0,26	1,51 $\pm$ 0,12	***	***	***	
	6	3,71 $\pm$ 0,28 <sup>x,a</sup>	3,18 $\pm$ 0,29 <sup>x,a</sup>	2,96 $\pm$ 0,27 <sup>x,a</sup>	1,04 $\pm$ 0,27 <sup>b</sup>	1,67 $\pm$ 0,27 <sup>b</sup>	2,51 $\pm$ 0,12				
	<i>Media</i>	2,69 $\pm$ 0,22	2,43 $\pm$ 0,24	2,33 $\pm$ 0,22	1,18 $\pm$ 0,22	1,45 $\pm$ 0,22					
<b>Terneza</b>	0	5,09 $\pm$ 0,29	5,03 $\pm$ 0,31	5,05 $\pm$ 0,29	4,72 $\pm$ 0,29 <sup>y</sup>	4,77 $\pm$ 0,29 <sup>y</sup>	4,93 $\pm$ 0,13	NS	***	*	
	6	5,86 $\pm$ 0,29	5,25 $\pm$ 0,31	5,39 $\pm$ 0,29	6,03 $\pm$ 0,29 <sup>x</sup>	6,15 $\pm$ 0,29 <sup>x</sup>	5,73 $\pm$ 0,13				
	<i>Media</i>	5,48 $\pm$ 0,25	5,13 $\pm$ 0,27	5,22 $\pm$ 0,26	5,37 $\pm$ 0,26	5,46 $\pm$ 0,26					
<b>Jugosidad</b>	0	4,61 $\pm$ 0,26	4,88 $\pm$ 0,28	4,41 $\pm$ 0,26	4,51 $\pm$ 0,26	4,66 $\pm$ 0,26	4,61 $\pm$ 0,18	NS	NS	NS	
	6	4,77 $\pm$ 0,26	4,44 $\pm$ 0,29	4,68 $\pm$ 0,26	5,30 $\pm$ 0,26	5,07 $\pm$ 0,26	4,85 $\pm$ 0,11				
	<i>Media</i>	4,69 $\pm$ 0,21	4,66 $\pm$ 0,23	4,54 $\pm$ 0,21	4,91 $\pm$ 0,21	4,87 $\pm$ 0,21					
<b>Fibrosidad</b>	0	4,79 $\pm$ 0,25	4,81 $\pm$ 0,27	4,53 $\pm$ 0,25	5,03 $\pm$ 0,25	4,59 $\pm$ 0,25	4,75 $\pm$ 0,12	NS	***	NS	
	6	4,01 $\pm$ 0,25	4,54 $\pm$ 0,28	4,18 $\pm$ 0,25	3,85 $\pm$ 0,25	3,74 $\pm$ 0,26	4,07 $\pm$ 0,12				
	<i>Media</i>	4,41 $\pm$ 0,21	4,67 $\pm$ 0,23	4,36 $\pm$ 0,22	4,44 $\pm$ 0,22	4,17 $\pm$ 0,22					

<sup>1</sup>escala 1-10; GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ , \* \*  $p < 0,01$ , \* \* \*  $p < 0,001$ .<sup>a,b,c</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ).<sup>x,y</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 4.14. Continuación.** Media  $\pm$  EE de las características sensoriales<sup>1</sup> de la carne de los corderos en función de la dieta (D) y del periodo de conservación (PC).

	PC (días)	Dieta (D)						Significación		
		GC	G150	G300	GVE	GMIX	Media	D	PC	D x PC
<b>Masticabilidad</b>	0	5,08 $\pm$ 0,29 <sup>x</sup>	4,80 $\pm$ 0,32	4,73 $\pm$ 0,31	5,48 $\pm$ 0,29 <sup>x</sup>	5,08 $\pm$ 0,29 <sup>x</sup>	5,04 $\pm$ 0,14	NS	***	***
	6	4,05 $\pm$ 0,29 <sup>y</sup>	4,98 $\pm$ 0,33	4,51 $\pm$ 0,29	3,71 $\pm$ 0,29 <sup>y</sup>	3,72 $\pm$ 0,31 <sup>y</sup>	4,19 $\pm$ 0,14			
	<i>Media</i>	4,57 $\pm$ 0,26	4,89 $\pm$ 0,28	4,62 $\pm$ 0,26	4,59 $\pm$ 0,26	4,40 $\pm$ 0,26				
<b>Flavor cordero</b>	0	4,16 $\pm$ 0,19 <sup>x</sup>	4,56 $\pm$ 0,22 <sup>x</sup>	4,40 $\pm$ 0,19 <sup>x</sup>	4,39 $\pm$ 0,19	4,28 $\pm$ 0,19	4,36 $\pm$ 0,09	**	***	**
	6	2,36 $\pm$ 0,21 <sup>y,c</sup>	2,60 $\pm$ 0,22 <sup>y,c</sup>	2,78 $\pm$ 0,19 <sup>y,bc</sup>	3,68 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	3,54 $\pm$ 0,21 <sup>ab</sup>	2,99 $\pm$ 0,09			
	<i>Media</i>	3,26 $\pm$ 0,14	3,58 $\pm$ 0,14	3,59 $\pm$ 0,14	4,04 $\pm$ 0,14	3,91 $\pm$ 0,14				
<b>Flavor grasa</b>	0	0,58 $\pm$ 0,06	0,75 $\pm$ 0,07	0,67 $\pm$ 0,06	0,55 $\pm$ 0,06	0,58 $\pm$ 0,06	0,63 $\pm$ 0,04	NS	NS	NS
	6	0,53 $\pm$ 0,09	0,68 $\pm$ 0,09	0,47 $\pm$ 0,09	0,51 $\pm$ 0,09	0,59 $\pm$ 0,09	0,56 $\pm$ 0,06			
	<i>Media</i>	0,55 $\pm$ 0,06	0,71 $\pm$ 0,07	0,57 $\pm$ 0,06	0,53 $\pm$ 0,06	0,59 $\pm$ 0,06				
<b>Flavor rancio</b>	0	0,46 $\pm$ 0,14 <sup>y</sup>	0,37 $\pm$ 0,15 <sup>y</sup>	0,49 $\pm$ 0,14	0,41 $\pm$ 0,14	0,43 $\pm$ 0,14	0,43 $\pm$ 0,06	**	***	**
	6	1,08 $\pm$ 0,14 <sup>x,a</sup>	1,22 $\pm$ 0,16 <sup>x,a</sup>	0,85 $\pm$ 0,14 <sup>ab</sup>	0,30 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	0,39 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	0,77 $\pm$ 0,06			
	<i>Media</i>	0,77 $\pm$ 0,09	0,79 $\pm$ 0,11	0,67 $\pm$ 0,09	0,36 $\pm$ 0,09	0,41 $\pm$ 0,09				
<b>Flavor extraño</b>	0	1,69 $\pm$ 0,24 <sup>y</sup>	2,07 $\pm$ 0,27 <sup>y</sup>	1,58 $\pm$ 0,24 <sup>y</sup>	1,41 $\pm$ 0,24	1,79 $\pm$ 0,24	1,71 $\pm$ 0,11	***	***	***
	6	4,51 $\pm$ 0,24 <sup>x,a</sup>	4,10 $\pm$ 0,27 <sup>x,ab</sup>	3,44 $\pm$ 0,24 <sup>x,b</sup>	1,75 $\pm$ 0,24 <sup>c</sup>	1,83 $\pm$ 0,24 <sup>c</sup>	3,13 $\pm$ 0,11			
	<i>Media</i>	3,11 $\pm$ 0,11	3,08 $\pm$ 0,11	2,51 $\pm$ 0,17	1,58 $\pm$ 0,17	1,81 $\pm$ 0,17				
<b>Apreciación global</b>	0	4,63 $\pm$ 0,24 <sup>x</sup>	4,48 $\pm$ 0,27 <sup>x</sup>	4,63 $\pm$ 0,24 <sup>x</sup>	4,82 $\pm$ 0,24	4,57 $\pm$ 0,24	4,63 $\pm$ 0,11	***	***	***
	6	2,61 $\pm$ 0,24 <sup>y,b</sup>	2,85 $\pm$ 0,27 <sup>y,b</sup>	3,13 $\pm$ 0,25 <sup>y,b</sup>	5,05 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	4,57 $\pm$ 0,25 <sup>a</sup>	3,64 $\pm$ 0,11			
	<i>Media</i>	3,62 $\pm$ 0,17	3,67 $\pm$ 0,19	3,88 $\pm$ 0,17	4,94 $\pm$ 0,18	4,57 $\pm$ 0,17				

<sup>1</sup>escala 1-10; GC: Grupo control; G150: Grupo suplementado con 1.500 ppm de extracto de aceituna; G300: Grupo suplementado con 3.000 ppm de extracto de aceituna; GVE: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E; GMIX: Grupo suplementado con 300 ppm de vitamina E y 1.500 ppm de extracto de aceituna; EE: Error Estándar; Sign.: Significación; NS: no significativo  $p > 0,05$ ; \*  $p < 0,05$ , \* \*  $p < 0,01$ , \* \* \*  $p < 0,001$ .<sup>a,b,c</sup> Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre grupos ( $p < 0,05$ ).<sup>x,y</sup> Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas entre periodos de conservación ( $p < 0,05$ ).

***DISCUSIÓN***

---

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. CRECIMIENTO DE LOS ANIMALES Y CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL

Los corderos iniciaron el periodo de ensayo con un peso medio de 12,6 kg, y finalizaron con un peso medio de 24,5 kg. Se halló efecto de la dieta en la GMD, mostrando los animales del lote GMIX un valor más alto. En estudios realizados sobre el efecto de los antioxidantes en la digestibilidad de nutrientes y síntesis de nitrógeno microbiano en rumiantes, Vázquez-Añón y Jenkins (2007) señalan que la incorporación de antioxidantes en la dieta de vacas lecheras podría optimizar la digestibilidad de los carbohidratos totales, aumentar la digestibilidad tanto de la fibra ácido detergente como neutro detergente, y también se les asocia a un aumento de la conversión de nitrógeno microbiano a partir del nitrógeno de la dieta. Por otra parte, la suplementación con antioxidantes podría dar lugar a cambios en el metabolismo microbiano del rumen, resultando beneficiosos para la actividad celulolítica (Vázquez-Añón y Jenkins, 2007). Según Hino et al. (1993), la suplementación de la dieta con  $\alpha$ -tocoferol y  $\beta$ -caroteno mitiga el efecto negativo de contenidos altos de PUFA de la dieta sobre el crecimiento microbiano, la digestión de celulosa y la utilización de ácidos grasos por la microflora ruminal, lo que podría explicar la mayor GMD encontrada en los corderos del grupo GMIX cuya dieta fue suplementada con extracto de aceituna y vitamina E. Este efecto no se encontró en los grupos GC, G150, G300 y GVE, que no recibieron ningún antioxidante o bien recibieron un solo tipo de antioxidante. Por lo que en el GMIX la adición de los dos antioxidantes en la dieta generó un posible efecto sinérgico entre ellos, mejorando la GMD.

Lee et al. (2009) suplementando la dieta con polifenoles de extracto de *Eucommia ulmoides* en cerdos, consiguen mejorar los rendimientos en el crecimiento y los parámetros de calidad de carne. Pudiendo ser debido a la fuente del polifenol, al tratarse de monogástricos. En cambio Luciano et al. (2013) en ganado ovino el suplemento con orujo de uva, no encontraron que incidiera sobre la GMD, lo que parece indicar que no todos los productos con posible efecto antioxidante inciden de la misma forma.

Para definir la calidad de la canal, los criterios utilizados principalmente son el peso, la conformación, el engrasamiento, la proporción de piezas y la composición tisular (Harrington y Kempster, 1989). Algunas de estas características como el peso, la conformación y el

engrasamiento se utilizan para clasificar las canales y por lo tanto para fijar su precio. Las canales de los corderos del presente estudio con un peso medio de 11 kg, estarían clasificadas, según la Norma de calidad para canales de ovino destinadas al mercado nacional (Resolución de 19 de diciembre de 2011) como cordero recental, con pesos canal superiores a 7 e inferiores o iguales a 13 kg. En este estudio, no se encontraron diferencias entre los grupos en el PCC ni en el PCF. Berg y Butterfield (1976) señalaron que el peso de la canal, está directamente correlacionado con el peso de sacrificio, siendo el peso de la canal una característica que influye en la conformación de la canal, engrasamiento, composición en tejidos y proporción de piezas, y por lo tanto incide directamente en la calidad de la misma. En este trabajo el peso de sacrificio fue prefijado antes de iniciar el estudio, lo que explica la ausencia de diferencias entre grupos relativas al peso al sacrificio, peso de la canal y engrasamiento. Los autores Velasco et al. (2004) y Atti et al. (2004) señalaron que el engrasamiento de la canal depende, de la alimentación, y en particular, de la relación energía/proteína de la dieta. En este estudio además del mismo peso al sacrificio, las dietas suministradas fueron isoenergéticas, isoproteicas y con la misma cantidad de grasa, lo que explica la ausencia de diferencias significativas en el engrasamiento de las canales entre grupos.

El peso de sacrificio es un factor que tiene gran influencia sobre el rendimiento, ya que los animales más pesados tienen mayores rendimientos de la canal que los de menor peso (Seebeck y Tulloh, 1966). Además Martín et al. (1992), señalaron que el engrasamiento incide sobre el rendimiento de la canal, aumentando el rendimiento en los animales más engrasados. En el estudio que nos ocupa como ambos parámetros (peso canal y engrasamiento) no variaron, no se han observado diferencias en el rendimiento canal entre los grupos estudiados.

Las pérdidas por refrigeración están relacionadas con el engrasamiento y principalmente con la grasa de cobertura, de tal forma que a mayor grasa se pierde menos agua por evaporación durante el oreo (Ruiz de Huidobro y Cañeque, 1993). Como el engrasamiento no varió significativamente entre grupos, las pérdidas por refrigeración tampoco fueron significativamente diferentes. Del mismo modo, Luciano et al. (2013) en corderos alimentados con dietas enriquecidas con fuentes de PUFA empleando semillas de lino y suplementando con polifenoles provenientes del orujo de oliva, encontraron que parámetros relacionados con la calidad de la canal como, peso vivo al sacrificio y peso de la canal fría no estuvieron afectados por la dieta. En cambio, otros autores como Wang et al. (2007)

observaron que la incorporación de extractos de Du-zhong (*Eucommia ulmoides*, árbol nativo de China) como antioxidante natural en la dieta de cerdos mejoraba la calidad de la canal.

En el pH inicial (0 horas) y el pH final (24 horas), no se encontraron diferencias significativas en función de la dieta suministrada. Para el músculo *Longissimus dorsi* el pH inicial fue de 6,74 y el final de 5,81 y para el músculo *Semitendinosus* el pH inicial fue de 6,35 y el final de 5,81. Los valores de pH inicial y final en ambos músculos, son similares a los observados por Vergara y Gallego (1999) en corderos de 28 kg de peso vivo de raza Manchega y por Díaz et al. (2002) en corderos de raza Talavera, de 24 y 28 kg de peso vivo. En la especie ovina, el pH de la carne inmediatamente después del sacrificio se sitúa, en general entre 6,8 y 6,5 mientras que a las 24 horas de oreo el valor de pH deseable para proporcionar a la carne sus propiedades organolépticas características debe ser inferior a 6 (Cornforth, 1999), por lo tanto, los valores de pH hallados concuerdan a los esperados para la carne ovina. La diferencia de pH inicial observada entre el músculo *Longissimus dorsi* y el músculo *Semitendinosus* se debe a que el músculo *Longissimus dorsi* es un músculo de tipo glicolítico, con una gran capacidad de acumulación de glucógeno, que hace que el pH inicial sea más alto en comparación con el del *Semitendinosus*, que es un músculo de tipo intermedio pero con un mayor metabolismo oxidativo (Hulot y Ouhayoun, 1999).

## 5.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA

La composición química de la carne de los corderos no se encontró afectada por la dieta, con valores medios del 18% de proteína, 2,8% de grasa intramuscular, 1,1% de cenizas y 76% de humedad. Estos resultados concuerdan con los descritos por Horcada et al. (1998) para carne de cordero de raza Rasa Aragonesa, procedente de animales sacrificados a los 24,5 kg de peso. Donde el contenido de proteína, grasa intramuscular, cenizas y humedad medidos en el músculo *Longissimus dorsi*, fueron de 21%, 3,2%, 1% y 74%, respectivamente.

De igual forma, Ortuño et al. (2015), al comparar dietas de ovinos suplementadas con polifenoles de romero (ácido carnósico y carnosol) o con vitamina E, frente a un grupo sin suplementar, no encontraron diferencias entre tratamientos para el contenido medio de humedad (75,5%), grasa total (2,1%) y proteína total (21%) de la carne. Tampoco, Luciano et al. (2013), encontraron diferencias en el porcentaje de grasa muscular al suplementar la dieta

con semilla de lino, orujo de oliva y la mezcla de semilla de lino y orujo de oliva, obteniendo un porcentaje medio de grasa intramuscular de un 3,8%.

En el presente estudio, la dieta no afectó a la concentración de grasa intramuscular, lo que podría explicarse teniendo en cuenta que los animales fueron sacrificados con el mismo peso vivo y a que las dietas utilizadas eran isoenergéticas.

### 5.3. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPX), son enzimas celulares cuya actividad antioxidante contribuye a la defensa oxidativa de la célula (Frankel, 1998). La enzima SOD neutraliza los aniones superóxido mediante la formación de peróxido de hidrógeno, mientras que la enzima CAT neutraliza el peróxido de hidrógeno de forma segura y produce  $H_2O$  y  $O_2^-$ . La GPX rompe los peróxidos de hidrógeno formando dos moléculas de  $H_2O$ , e inactiva los peróxidos lipídicos formados durante la oxidación de lípidos (Petron et al., 2007). Una disminución en la actividad de SOD y CAT se ha asociado con la ruptura del equilibrio existente entre la producción de especies reactivas al oxígeno y los mecanismos antioxidantes, dando lugar a estrés oxidativo *in vivo* (Pigeolot et al., 1990). Por otra parte, algunos autores consideran que se puede producir un aumento de la actividad de la enzima CAT como mecanismo de respuesta de retroalimentación al estrés oxidativo, (Venkatraman y Pinnavaia, 1998; Renerre et al., 1999). Frank y Messaro (1980) también asociaron un aumento en la actividad de la enzima GPX al estrés oxidativo.

En nuestros resultados la actividad de las enzimas CAT y SOD no presentó diferencias entre los grupos. El hecho de que CAT y SOD sean enzimas acopladas (Descalzo et al., 2007), podría explicar que expresaran el mismo patrón de actividad en este estudio. Gladine et al. (2007a) utilizando dietas enriquecidas con ácidos grasos n3 en ratas, tampoco evidenciaron que la incorporación en la dieta de extractos de polifenoles incidiera sobre la actividad de las enzimas CAT y SOD, medidas en el músculo *Longissimus thoracis*. Por otro lado, Petron et al. (2007) en ovinos comparando diferentes pastos (ray-grass intensivo, diversas variedades botánicas y pastos ricos en leguminosas) tampoco encontraron diferencias sobre la actividad de CAT y SOD. Los sistemas de producción extensivos basados en pasto proporcionan generalmente altas cantidades de antioxidantes en la dieta, en comparación con sistemas intensivos basados en concentrados (Luciano et al., 2012).

En cuanto a la actividad de la enzima GPX, se observó una tendencia ( $p=0,08$ ) a una mayor actividad en el grupo GMIX. Estos resultados podrían sugerir que la suplementación con los dos antioxidantes, hidroxitirosol y vitamina E, aumentó la capacidad de defensa antioxidante de la enzima GPX en una dieta enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados.

De manera similar Moyo et al. (2012), estudiando cabras suplementadas con hoja de *Moringa oleifera* (ricos en flavonoides, flavonoles, fenoles y proantocianidinas) y un grupo control sin suplementación, observaron que la actividad del glutatión reducido fue significativamente mayor en las cabras alimentadas con dietas suplementadas con compuestos fenólicos, presentando a su vez menor peroxidación de lípidos. Estos autores atribuyen el aumento en la actividad del glutatión reducido al efecto antioxidante y sinérgico de los compuestos polifenólicos presentes en las hojas *Moringa oleifera*, para romper peróxidos y neutralizar los radicales libres.

En este estudio, como se ha descrito anteriormente, solo el grupo suplementado con extracto de aceituna y vitamina E, mostró la mayor actividad de la enzima GPX, coincidiendo también con los niveles de TBARS más bajos y una menor oxidación de proteínas (concentración de grupos carbonilos más bajos). Esto nos podría indicar que al suplementar la dieta con ambos antioxidantes se genera un efecto sinérgico sobre la actividad de defensa de la GPX. De acuerdo con Seven et al. (2004) y Rawal et al. (2004), la suplementación de la dieta con vitamina E y polifenoles respectivamente, conduce a un aumento de la actividad de GPX.

#### 5.4. CONTENIDO EN POLIFENOLES TOTALES Y $\alpha$ -TOCOFEROL

En este trabajo la concentración de polifenoles en la carne no presentó diferencias significativas entre los grupos estudiados, del mismo modo que Muíño et al. (2014) utilizando en ovino dietas enriquecidas con polifenoles de vino tinto (900 mg de extracto de vino tinto/kg de alimento) y vitamina E (300 mg dl- $\alpha$ -tocoferol/kg de alimento), tampoco encontraron diferencias en la concentración de compuestos fenólicos de la carne entre grupos.

El mayor TPC (contenido total en polifenoles) en el hígado respecto al músculo se debe a que los polifenoles se localizan principalmente en los tejidos donde son metabolizados como el tejido hepático, estomacal, intestinal, colon y riñón (Quiñones et al., 2012), Además, el tejido hepático tiene una gran actividad metabólica sobre los ácidos grasos, produciéndose mayor

estrés oxidativo y por lo tanto requiere mayor cantidad de compuestos antioxidantes disponibles que el tejido muscular (Gladine et al., 2007a).

En este estudio se observó efecto de la dieta en el TPC del hígado, de manera que los grupos suplementados con vitamina E (GVE y GMIX) presentaron mayor TPC en el hígado que los grupos GC, G150 y G300. Lo que podría sugerir que la vitamina E preserva los polifenoles de la dieta, pudiéndose fijar en el tejido hepático. Por el contrario López-Andrés et al. (2013) no observaron diferencias en el TPC del plasma y del hígado de corderos alimentados con dietas suplementadas con quebracho (rica en proantocianidinas) y los grupos no suplementados, atribuyendo este hallazgo a que los taninos de quebracho no eran degradados por los microorganismos ruminales y por ende no logran ser absorbidos en el tracto gastrointestinal, efecto ya descrito por Makkar et al. (1995), en un estudio *in vitro* midiendo los taninos de quebracho por el reactivo butanol-HCl-Fe<sup>3+</sup>.

Sin embargo, Luciano et al. (2011) encontraron una mayor concentración de polifenoles en la carne de corderos alimentados 60 días con una dieta enriquecida en taninos (utilizaron suplemento de quebracho al 8,96% rico en proantocianidinas), en comparación con los corderos de dietas control. En un trabajo realizado por Jang et al. (2008) encontraron mayores concentraciones de polifenoles totales en carne de pollos alimentados con un extracto medicinal de hierbas, que contenía una mezcla de hierbas con propiedades medicinales: hilo de oro chino (*Coptis chinensis*), morera (*Morus alba L.*) y madreSelva japonesa (*Lonicera flos*), comparado con aves alimentadas con un pienso control. Mientras que Estévez et al. (2007), observó un mayor contenido en polifenoles en salchichas procedentes de cerdos criados al aire libre en comparación con otros alimentados con concentrados

El hecho de que en este trabajo no se encontraran diferencias entre el grupo control y los suplementados con extracto de aceituna, pudiera deberse a varios factores, por un lado la duración de la suplementación ya que se aportó la dieta rica en polifenoles 45 días, y Luciano et al. (2011) la aportaron 60 días. Además, podría ser que los microorganismos ruminales degraden y descompongan los polifenoles del extracto de aceituna, haciendo que no puedan ser absorbidos. En ese sentido, estudios realizados sobre la metabolización de catequina en rumiantes han encontrado que la flora ruminal actúa sobre las catequinas degradándolas y produciendo diversos metabolitos (Becker et al., 2014) que pueden ser absorbidos. Estos metabolitos también pueden ser conjugados y en el hígado sufrir modificaciones como

metilación, sulfatación y glucuronidación, resultando compuestos que son fácilmente eliminados por la orina (Natsume et al., 2003).

Los compuestos fenólicos varían en sus estructuras y propiedades químicas, encontrándose compuestos fenólicos simples (tales como ácidos fenólicos y flavonoides) a taninos altamente polimerizado (Soobrattee et al., 2005). Estas diferencias pueden afectar la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos (Hollman y Katan, 1997). La complejidad molecular de los compuestos fenólicos parece ser un factor importante que limita su biodisponibilidad, siendo de fácil absorción por el intestino los compuestos fenólicos monoméricos, mientras que no hay informes de compuestos fenólicos hallados en el plasma con grados de polimerización mayores que los dímeros (Manach et al., 2005).

Gladine et al. (2007b) detectaron la presencia de compuestos fenólicos monoméricos en el plasma de ovejas que recibieron diferentes extractos vegetales ricos en polifenoles (de uva o el romero) por infusión directa ruminal y sugirió que los rumiantes pueden ser capaces de metabolizar poliméricos proantocianidinas en compuestos biodisponibles.

Algunos autores sugieren un efecto antioxidante indirecto de los compuestos fenólicos que son mal absorbidos en el intestino, este efecto podría estar mediado por la actividad antioxidante directa de compuestos fenólicos en el intestino donde podrían quelar metales prooxidantes y reducir la producción de peróxidos de lípidos y compuestos tóxicos con una mejora general del estado antioxidante del animal (Halliwell et al., 2005; Kerem et al., 2006). Además, se ha propuesto que la actividad antioxidante directa de los compuestos fenólicos en el intestino podría proteger otros antioxidantes de la oxidación, con un efecto de ahorro de moléculas bioactivas importantes como la vitamina E (Yamamoto et al., 2006).

En relación a la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en las muestras de carne, se encontró un efecto significativo de la dieta de manera que los corderos que fueron suplementados con vitamina E (GVE y GMIX) presentaron mayor concentración de  $\alpha$ -tocoferol en la carne. Numerosos autores han mostrado la eficacia de la suplementación con vitamina E en la dieta de corderos sobre la deposición de esta vitamina en diversos tejidos, así Lauzurica et al. (2005), suplementaron las dietas de corderos de raza Manchega con tres niveles de vitamina E (250, 500 y 1000 mg por kg de pienso) frente a un grupo control (20 mg por kg de pienso), encontrando que la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en la carne fue afectada por el nivel de suplementación con vitamina E, siendo mayor la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en el músculo

del grupo de corderos suplementados con mayor dosis de vitamina E y menor en los corderos del grupo control. Ripoll et al. (2013) estudiaron la suplementación en la dieta de corderos de la raza Rasa Aragonesa con vitamina E (500 mg por kg de pienso) en etapas de finalización de distinta duración (suplementación desde 10, 20 o 30 días antes del sacrificio). Estos autores observaron que el contenido de  $\alpha$ -tocoferol aumentó en la carne al aumentar el periodo de suplementación, siendo todas las concentraciones superiores al grupo control. Igualmente Arnold et al. (1993) señalaron que cuanto mayor sea la concentración de vitamina E suplementada en las dietas y mayor es el periodo de suplementación, mayor será la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en el tejido.

Existen otros autores que han realizado pruebas de suplementación en la dieta con Vitamina E en otras especies distintas del cordero, para la mejora de la conservación de la carne, que son congruentes con nuestros resultados. Lanari et al. (1995), Asghar et al. (1991) y Monahan et al. (1990) quienes suplementando las dietas de cerdos con  $\alpha$ -tocoferol (utilizando niveles de 200 mg/kg de dieta) observaron que la concentración de  $\alpha$ -tocoferol total en la carne era mayor en los grupos suplementados con vitamina E en comparación con los grupos controles.

Al igual que nuestros resultados, la concentración de  $\alpha$ -tocoferol total en la carne, no fue afectada al suplementar la dieta con polifenoles en el estudio realizado por Muñio et al. (2014), quienes observaron que la suplementación con extracto de vino tinto (900 mg de extracto de vino tinto/kg de alimento) en la dieta de ovinos no afectaba a la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en la carne, al compararlo con el grupo control. Estos autores si encontraron un efecto de la suplementación de la dieta con vitamina E, encontrando mayor contenido de  $\alpha$ -tocoferol en el músculo LD en el grupo suplementado con 300 mg dl- $\alpha$ -tocoferol/kg de alimento en comparación a los otros grupos. Asimismo O'Grady et al. (2006), quienes suplementando con extracto de romero (1.000 mg/animal/día) y catequinas de té (1.000 mg/animal/día) durante 103 días, en bovino y comparándolas con un control, no encontraron diferencias en las concentraciones de  $\alpha$ -tocoferol/kg total en la carne.

### 5.5. COLOR Y PROPORCIÓN DE METAMIOGLOBINA

El color de la carne es uno de los atributos más valorados por el consumidor en el momento de la compra, hasta el punto de ser considerado uno de sus criterios preferenciales al hacer su elección inicial (Krammer, 1994). Adams y Huffman (1972), indicaron que el consumidor

relaciona el color de la carne con su frescura prefiriendo en general, una carne de color rojo brillante mientras que rechaza la de color rojo apagado o pardo. El color de la carne depende de la concentración de mioglobina y de su estado químico, así como de la estructura de la superficie y de la proporción de grasa intramuscular (Judge et al., 1989).

El parámetro  $L^*$  es el más relacionado con la valoración visual del consumidor (Murray, 1989) y depende de varios factores como el pH, la capacidad de retención de agua, la humedad, la integridad de la estructura muscular, y en menor medida del grado de oxidación de hemopigmentos (Palombo y Wijngaards, 1990). En nuestro estudio el parámetro  $L^*$  estuvo afectado por la dieta, observándose que los grupos suplementados con vitamina E mantenían valores de  $L^*$  más bajos, lo que nos sugiere que al suplementar la dieta con vitamina E el parámetro  $L^*$  es más estable.

Este efecto de la vitamina E sobre la estabilidad del color también fue observado por Ripoll et al. (2011) quienes encontraron que los valores de  $L^*$  fueron menores en corderos alimentados con una dieta suplementada con vitamina E (500 mg de vitamina E/kg) en comparación con el grupo control (dieta comercial con 10 mg  $\alpha$ -tocoferol/kg de concentrado), desde el día 7 al día 13 de almacenamiento en MAP (40/30/30 O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>/Ar), observando que el día 13 de conservación, el valor de  $L^*$  para el grupo suplementado con vitamina E fue de alrededor de 44, mientras que el grupo control presentó valores más cercanos a 47. Estos autores asocian sus resultados al efecto de la vitamina E sobre la capacidad de retención de agua de la carne. Así, la vitamina E evita la oxidación de la carne, conservando la capacidad de retención de agua entre las miofibrillas musculares lo que reduce las pérdidas de agua de la carne, la humedad superficial y a corto plazo la luminosidad de la misma (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005).

Nuestro resultados coinciden con Ortuño et al. (2015) quienes al comparar una dieta suplementada con polifenoles de romero, con una dieta suplementada con vitamina E y una dieta control, observaron que el parámetro  $L^*$  fue menor en el grupo de corderos suplementados con vitamina E que en los otros grupos a partir del día 14 de conservación en atmósfera modificada, atribuyendo sus resultados a que la vitamina E suplementada incidía sobre la reducción del exudado de la carne.

Sin embargo Luciano et al. (2009), al comparar una dieta a base de un concentrado comercial y una dieta suplementada con taninos de quebracho (*Schinopsis lorentzii*) en corderos, y

conservando la carne en atmosfera modificada, observaron que el grupo suplementado con taninos presentó menor  $L^*$  en su carne que el grupo de corderos sin suplementar, a los 14 días de conservación.

En relación al periodo de conservación, se observó un aumento de la luminosidad de la carne durante la conservación. El parámetro  $L^*$  tiende a aumentar con el tiempo de conservación, asociado a un descenso del pH en la carne y a la disminución de la capacidad de retención de agua y por tanto a cambios en la reflexión de la luz (Jacob et al., 2007). Por el contrario un incremento del pH de la carne, aumenta la capacidad de retención de agua, las fibras musculares se hinchan y la estructura miofibrilar es más abierta, debido a la retención de agua entre las cadenas proteicas. De esta forma, la superficie de la carne refleja una menor cantidad de luminosidad y su color aparece más oscuro (Renner, 1988).

Este aumento del parámetro  $L^*$  también fue indicado por Ripoll et al. (2011) al aumentar el periodo de conservación. Ortuño et al. (2015) señalaron que la disminución en la capacidad de retención de agua durante el almacenamiento sería el responsable del aumento del parámetro  $L^*$ . Ripoll et al. (2011) propusieron un límite de aceptabilidad para el parámetro  $L^*$  de alrededor de 44, teniendo en cuenta esta referencia, las muestras del grupo G150 no se encontrarían dentro del límite de aceptabilidad a día 6 de conservación, mientras que las muestras de los grupos G300, GVE y GMIX estarían dentro del límite de aceptabilidad incluso el día 12 de conservación.

Según lo señalado por Kang et al. (1998), el valor del índice  $a^*$  puede ser útil para predecir la concentración de mioglobina y por ello también el color de la carne, existiendo una correlación significativa entre la concentración de pigmentos hemínicos y el índice de rojo ( $a^*$ ) (Martínez-Cerezo et al., 2005). Por otra parte los valores de  $a^*$  se correlacionan negativamente con la decoloración de la carne a lo largo de la conservación (Insausti et al., 2008). Inicialmente (de 0 a 6 días) el parámetro  $a^*$  aumentó en todos los grupos. Este aumento se debe a que el envasado en MAP con alta proporción de oxígeno posibilita una oxigenación inicial de la mioglobina que aporta un color rojo vivo a la carne (O'Grady et al., 1998). No obstante, se observó una interacción significativa entre la dieta y el periodo de conservación, de manera que en los grupos GVE, GMIX y G300 el parámetro  $a^*$  aumentó de 0 a 6 días y se mantuvo estable de 6 a 12 días, mientras que en los grupos GC y G150 el parámetro  $a^*$  aumentó de 0 a 6 días y luego disminuyó de 6 a 12 días. Como consecuencia a

día 12 los valores más altos de  $a^*$  fueron encontrados en los grupos GVE y GMIX y el valor más bajo en el GC. Kasapidou et al. (2012) observaron que la suplementación de la dieta de corderos con vitamina E, a dosis de 60, 120, 250 y 500 mg por kg de pienso, permitió reducir el deterioro del color a los 6 días de almacenamiento en refrigeración ( $1^{\circ}\text{C}$ ) en MAP (75/25  $\text{O}_2/\text{CO}_2$ ), siendo el valor de  $a^*$  más alto a mayor dosis de vitamina E al compararlo con el grupo control (30 mg vitamina E por kg). Luciano et al. (2009), observaron una disminución del valor de  $a^*$  durante los 14 días de conservación de la carne en MAP, siendo el grupo suplementado con taninos el que presentó un mayor valor de  $a^*$ .

Mancini y Hunt (2005) indicaron que la disminución del índice  $a^*$  junto con el aumento del índice  $b^*$  después de un período de conservación, son descriptivos del deterioro del color de la carne de rojo a marrón y reflejan el aumento de la concentración de metamioglobina. En nuestro estudio el parámetro  $b^*$  aumentó a los 6 días de conservación y el parámetro  $a^*$  disminuyó en los grupos GC y G150 también a los 12 días, lo que conlleva deterioro del color que podría ser responsable de un rechazo de la carne por parte del consumidor.

En nuestro caso en el parámetro  $C^*$  solo se observó un efecto del periodo de conservación, donde  $C^*$  aumentó inicialmente (de 0 a 6 días), lo que es atribuido al efecto "blooming" por una oxigenación inicial de la mioglobina (Nieto et al. 2010b), observándose a día 6 una carne de un color más vivo que al día inicial (día 0), para luego disminuir de 6 a 12 días de conservación probablemente como resultado del envasado en atmósfera con una alta proporción de oxígeno (70/30,  $\text{O}_2/\text{CO}_2$ ) (Nieto et al., 2010b).

Nieto et al. (2010b) encontraron resultados similares en corderos con dietas suplementadas con polifenoles de hojas de tomillo en dosis de 3,7% y 7,5% frente a un grupo control, y conservando su carne durante 21 días en MAP (70/30,  $\text{O}_2/\text{CO}_2$ ). Estos autores solo encontraron un efecto del periodo de conservación, aumentando el parámetro  $C^*$  en el día 7 en todos los grupos y disminuyendo progresivamente en periodos más prolongados de conservación. Luciano et al. (2009) tampoco encontraron efecto de la dieta suplementada con taninos de quebracho en el parámetro  $C^*$ , pero si observaron un efecto del periodo de conservación, encontrando el día 11 los valores más bajos de  $C^*$  en comparación con los días 0 y 4 de conservación. La carne del día 0 tenía los valores mayores de  $C^*$  en comparación a la carne conservada 7 y 14 día en MAP, sin embargo no encontraron el efecto "blooming" inicial sobre el parámetro  $C^*$  como el observado en nuestros resultados.

El tono o  $h^*$ , está relacionado con la decoloración y es considerado como un buen indicador del cambio de color en la carne (Ripoll et al., 2008), ofreciendo una determinación más realista de su deterioro. En nuestro estudio se observó una interacción entre la dieta y el periodo de conservación en el parámetro  $h^*$ . En los grupos suplementados con vitamina E (GMIX y GVE) el parámetro  $h^*$  se mantuvo constante a lo largo de la conservación, mientras que en los grupos GC y G150 aumentó del día 0 al 12 de conservación. Así en el día 12, los grupos GC y G150 mostraron los valores de  $h^*$  más altos, y por tanto una mayor decoloración, mientras que los grupos suplementados con vitamina E (GMIX y GVE), presentaron los valores más bajos y por tanto mostrando una menor decoloración. El grupo suplementado con la dosis más alta de extracto de aceituna (G300) presentó valores de  $h^*$  intermedios. Si bien Ortuño et al. (2015) observaron un aumento del tono durante el periodo de conservación en todos los grupos, este aumento fue menor en el grupo de suplementado con vitamina E y en los grupos suplementados con polifenoles de romero que en el grupo control, coincidiendo con nuestros resultados.

Del mismo modo Ripoll et al. (2011) observaron que a los 13 días de conservación el grupo de corderos no suplementado con vitamina E presentaron una mayor decoloración de su carne (valores máximos de  $h^*$ ), siendo menor en los corderos suplementados con vitamina E (valores más bajos de  $h^*$ ). Liu et al. (1996) señalaron que la vitamina E incorporada a la dieta produce mayor estabilidad del color retardando la caída del índice  $a^*$  y la subida del tono. Al relacionar las variaciones del índice  $h^*$  con la evolución del parámetro  $a^*$  observamos que los grupos suplementados con vitamina E presentaron un valor de  $a^*$  más altos y valores de  $h^*$  más bajos, indicando una mayor estabilidad del color.

Ripoll et al. (2011) proponen un valor de  $h^*$  de  $62^\circ$  como límite de aceptabilidad. Teniendo en cuenta este límite observamos en nuestro estudio que todos los grupos se mantuvieron por debajo del límite de aceptabilidad el día 6 de conservación, mientras que a los 12 días solo los grupos suplementados con vitamina E (GMIX y GVE) mostraron valores por debajo de ese límite.

Los cambios en el color de la carne en función del tiempo están estrechamente relacionados con la oxidación de la mioglobina y la consecuente acumulación de metamioglobina, siendo esta la principal responsable de la decoloración de la carne (Mancini y Hunt, 2005). La tasa de decoloración de la carne está relacionada con el equilibrio entre los procesos de oxidación y

los sistemas enzimáticos que controlan la reducción de los niveles de metamioglobina en la carne (Faustman et al., 2010; Nassu et al., 2012). Concentraciones de más del 20% de metamioglobina en la superficie de la carne, hace que dos de cada tres consumidores rechacen esa carne (Hood y Riordan, 1973). Por lo que se hace necesario evitar la formación de metamioglobina para mantener la estabilidad del color de la carne, con lo cual se puede prolongar la vida útil de la carne. Ledward (1985) señala que es importante controlar las condiciones de almacenamiento, como la temperatura y la duración del mismo, ya que son factores que afectan el nivel de acumulación de metamioglobina en la carne.

En nuestro estudio se observó una interacción entre la dieta y el periodo de conservación en la proporción de metamioglobina. La metamioglobina aumentó en todos los grupos de 0 a 6 días, mientras que de 6 a 12 días permaneció constante en G300 y en los grupos suplementados con vitamina E (GMIX y GVE), sin embargo en el grupo control (GC) y G150 aumentó. De forma que en el día 12 el grupo GC mostró proporciones más altas de metamioglobina, que los suplementados con vitamina E, lo que nos sugiere que la vitamina E disminuyó la oxidación de la mioglobina. El grupo suplementado con la dosis más alta de extracto de aceituna (G300) presentó una proporción intermedia de metamioglobina, lo que nos podría sugerir un posible efecto antioxidante del extracto sobre la oxidación de pigmentos. Greene et al. (1971) plantean como límite de aceptabilidad un 40% de metamioglobina (coloración marrón-parduzca), a partir del cual se produce un rechazo de la carne por parte del consumidor. Considerando esta referencia, en el día 12 de conservación, las carnes de los grupos G300 (38%), GVE (31%) y GMIX (30%) serían aceptables por los consumidores en relación a este parámetro.

Anton et al. (1993) indicaron que una mayor formación de metamioglobina puede estar relacionada con el aumento de la luminosidad. En nuestro estudio, la metamioglobina aumentó con el periodo de conservación, al igual que el parámetro L\*. Asimismo, se observó que los grupos GMIX y GVE presentaron la proporción más baja de metamioglobina, y los valores más bajos de luminosidad. Según Chikunya et al. (2004) la forma activa de la vitamina E,  $\alpha$ -tocoferol, no se degrada en el rumen, depositándose en los tejidos musculares y en la grasa, actuando directamente sobre las membranas celulares impidiendo la oxidación de los pigmentos (Higgins et al., 1998).

El efecto de los polifenoles en el retraso en la formación de metamioglobina en el grupo G300 observado en nuestro estudio también fue descrito por Nieto et al. (2010b), quienes reportaron una menor concentración de metamioglobina en los corderos suplementados con polifenoles de hojas de tomillo a una dosis del 7,5% en el pienso, comparado con el grupo control a los 7, 14 y 21 días de conservación en MAP. Asimismo, Luciano et al. (2009) observaron en carne de cordero envasada en MAP una tendencia hacia un menor contenido en metamioglobina cuando procedía de corderos suplementados con taninos de quebracho. Choe y Min (2009), indicaron que los polifenoles, como en nuestro caso el hidroxitirosol, actuarían como antioxidantes ya que son inactivadores de radicales, quelantes de metales, y probablemente interfieren en el ciclo de propagación de la oxidación, previniendo también la formación de radicales lipídicos. La actividad antioxidante del hidroxitirosol radica en su gran capacidad de aceptar electrones desapareados, evitando la formación de especies reactivas del oxígeno, previniendo su efecto perjudicial (Zrelli et al., 2011; Napolitano et al., 2010). Este antioxidante actuaría secuestrando especies moleculares como  $O_2^{*-}$ ,  $H_2O_2$  o  $HOCl$  e impidiendo su producción por parte de iones metálicos como el hierro. También inhibiría la acción de las proteínas de la transcripción del ADN ( $NF-\kappa\beta$ ) uno de los principales productores de especies reactivas del oxígeno (Granados-Principal et al., 2000).

Con respecto al efecto de la suplementación de la vitamina E sobre la formación de metamioglobina observado en nuestro trabajo, Jensen et al. (1998) y Mitsumoto et al. (1991) han indicado que la adición de vitamina E en la dieta, puede retrasar la formación de metamioglobina en la carne, que Faustman et al. (1989b) atribuyen a una reducción en la oxidación de los lípidos y de la mioglobina. Ripoll et al. (2011) observaron en corderos que la carne de los grupos suplementados con vitamina E mantuvieron proporciones de metamioglobina de un 25% a un 30% el día 13 de conservación en MAP, en cambio la carne del grupo control alcanzaron un 47% el día 13 de conservación. Este efecto antioxidante de la vitamina E sobre la mioglobina, también fue reportado por Lauzurica et al. (2005), quienes encontraron menor concentración de metamioglobina en la carne de cordero suplementada con 250 ppm de vitamina E (30%) que en el grupo control (50%) al día 14 de conservación en MAP, observando al día 28 porcentajes de 40% y 68% respectivamente. Lanari et al. (1995), indicaron que la dieta suplementada con vitamina E aumenta la deoximioglobina y la tasa de oxigenación, disminuyendo la oximioglobina por una menor tasa de auto-oxidación, mejorando así la estabilidad del complejo oximioglobina de la carne.

## 5.6. OXIDACIÓN LIPÍDICA Y PROTEICA

Los procesos oxidativos son uno de los factores que más reducen la calidad y aceptabilidad de la carne (Morrissey et al., 1998) y es el principal factor que conduce al deterioro de la misma durante su conservación (Ahn et al., 2007). La suplementación de la dieta de los corderos con antioxidantes no tuvo efecto sobre los valores iniciales (0 días) del índice de oxidación lipídica con un valor medio de 0,49 mg MDA/kg carne. Lauzurica et al. (2005) tampoco observaron diferencias significativas a día 0 para la carne de corderos alimentados con dietas suplementadas con diferentes concentraciones de vitamina E. Sin embargo, estos autores encontraron unos valores de TBARS iniciales de 0,04 a 0,07 mg MDA/kg carne, bastante menores que los obtenidos en este trabajo. Esto puede ser debido a que nuestras dietas experimentales fueron enriquecidas en PUFA, lo cual provoca que la carne sea más susceptible a la oxidación lipídica y por tanto, presenten valores de TBARS superiores que la carne de animales alimentados con dietas no enriquecidas en PUFA (Campo et al., 2006).

En nuestro estudio se observó una interacción entre la dieta y el periodo de conservación en el TBARS. La concentración de TBARS aumentó durante todo el periodo de conservación en los grupos GC y G150; en el grupo G300 este aumento fue significativo de 0 a 6 días, manteniéndose constante del día 6 al 12 de conservación. Mientras que en los grupos suplementados con vitamina E (GMIX y GVE) los valores de TBARS se mantuvieron constantes a lo largo de todo el periodo de conservación. De forma que en el día 6 y en el día 12 los grupos GC, G150 y G300 mostraron valores TBARS más altos, y por tanto mayor oxidación de lípidos, que los grupos GMIX y GVE que presentaron los valores más bajos, mostrando por tanto menor oxidación.

Estévez y Cava, (2006) señalaron que la oxidación lipídica implica la degradación de los ácidos grasos poliinsaturados y la generación de radicales libres, lo que lleva al deterioro de proteínas, oxidación de pigmentos hemínicos y producción de olor a rancio. En este estudio los grupos GC, G150 y G300 presentaron concentración más altas de TBARS y mayor formación de metamioglobina, ya que ambos procesos estarían asociados y ocurren simultáneamente (Luciano et al., 2009). Sin embargo, ambos procesos fueron retardados en las dietas suplementadas con vitamina E. Higgins et al. (1998) señalaron que la acción directa de la vitamina E en las membranas celulares de la carne evita la oxidación de lípidos y pigmentos.

Campo et al. (2006), indicaron que el límite de detección de olor y sabor a rancio en carne de vacuno como consecuencia de la oxidación lipídica, se encuentra en un valor de TBARS de 2 mg MDA/kg carne. La carne de los corderos alimentados con la dieta control y las dietas suplementadas con polifenoles, presentaron valores de TBARS dos veces por encima de este límite de aceptabilidad ya en el día 6 de conservación. En cambio la carne de los corderos suplementados con vitamina E no superó este límite en todo el periodo de conservación estudiado.

El efecto antioxidante de la vitamina E sobre la oxidación de los lípidos fue también observado por Lauzurica et al., (2005) utilizando tres niveles de suplementación con vitamina E (250, 500 y 1000 mg por kg de pienso) en corderos de raza Manchega, permitiendo la dosis de 250 mg por kg de pienso, reducir la oxidación de lípidos (TBARS) en la carne, obteniendo valores en torno a 0,5 mg MDA/kg carne, a los 14 días de conservación en MAP (70/30, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>). Para estos autores el aumento en la estabilidad de los lípidos se debe a que la vitamina E se deposita en la bicapa lipídica de las membranas celulares y en los depósitos grasos, esto hace que ejerza su acción como antioxidante directamente sobre los lípidos de la membrana. La vitamina E rompe la cadena de peroxidación lipídica, previene la formación de hidroperóxidos e inhibe las lipoperoxidasas (Buckley et al., 1995), enzimas responsables de la oxidación de las grasas.

Kasapidou et al. (2012) estudiaron el efecto antioxidante de diferentes dosis de vitamina E (30, 60, 120, 250 y 500 mg por kg) en el pienso de corderos. Ellos indicaron que solo las dos dosis más altas permitieron reducir la oxidación lipídica (TBARS) en la carne envasada en MAP (75/25, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>), almacenada en refrigeración (1°C) en ausencia de luz, durante 6 días.

De la misma manera Ripoll et al. (2011), suplementaron la dieta de corderos con 500 mg de vitamina E por kg de pienso y observaron una reducción de la oxidación de lípidos (TBARS) en la carne envasada en MAP (40/30/30, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>/Ar) y almacenada durante 13 días en refrigeración (4°C) en ausencia de luz, y reportaron valores de TBARS de alrededor de 0,23 mg MDA/kg carne. Estos autores indicaron que la vitamina E es el principal agente captador de radicales libres solubles en lípidos. En nuestro caso, probablemente debido a que las dietas contenían PUFA y la carne estaba enriquecida en ácidos grasos n<sub>3</sub>, obtuvimos valores más altos en los grupos suplementados con dosis de 300 ppm de vitamina E (0,73 mg MDA/kg carne para GVE y GMIX) ya después de 6 días de conservación en MAP.

El efecto de la vitamina E y de los polifenoles sobre la estabilidad oxidativa de la carne también ha sido estudiado por otros autores. Muíño et al. (2014), en dietas de ovinos enriquecidas con n3, compararon los efectos de suplementar la dieta con polifenoles de vino tinto (900 mg de extracto de vino tinto/kg de alimento), frente a una dieta suplementada con vitamina E (300 mg dl- $\alpha$ -tocoferol/kg de alimento), y un grupo control (sin suplemento), en carne conservada 12 días en refrigeración en MAP. Estos autores no observaron ningún efecto de los polifenoles sobre la oxidación de lípidos, mientras que si observaron un efecto positivo de la vitamina E.

Coincidiendo a su vez con Luciano et al. (2009) que no encontraron efecto antioxidante del extracto de quebracho (proantocianidinas) en la dieta (8,9% MS) sobre los valores de TBARS de la carne de cordero conservada en MAP (80/20, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) 14 días. Nuestros resultados también coinciden con estudios realizados en otras especies como es el caso de O'Grady et al. (2006), quienes suplementaron las dietas de bovinos de carne con catequinas de té (1.000 mg/animal/día) y romero (ácido carnósico y carnosol) (1.000 mg/animal/día) durante 103 días, observando que la suplementación de la dieta con polifenoles no mejoró la estabilidad oxidativa de los lípidos en la carne almacenada en MAP (80/20, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) en refrigeración (4°C) durante 8 días.

En cabritos Karami et al. (2011) compararon el efecto de suplementar la dieta con vitamina E (400 ppm), cúrcuma (0,5%) y *andrographis paniculata* (0,5%) (planta herbácea medicinal de la familia de las acantáceas), y señalaron que no había diferencias en los valores de TBARS los días 0 y 7 de conservación en refrigeración al vacío con respecto a una dieta control, mientras que el día 14 se observó un aumento significativo de los niveles de TBARS, siendo menor en las dietas suplementadas con vitamina E.

Sin embargo, Luciano et al. (2013) sí encontraron un efecto de los polifenoles en la estabilidad de los lípidos, en carne de corderos alimentados con dietas suplementadas con orujo de aceituna y almacenada 11 días en MAP. Ellos observaron que el tiempo de conservación afectó a los valores de TBARS, con un aumento general en todos los grupos a mayor tiempo de conservación y estabilizándose la oxidación de los lípidos a partir del día 7 de conservación en el grupo suplementado con polifenoles. Jerónimo et al. (2012) señalaron que la suplementación de la dieta de corderos de raza Merina con extracto de semilla de uva y con hojas y tallos de jara común (*Cistus ladanifer L.*), a dosis del 2,5% y 25%, redujo los

niveles de oxidación lipídica (TBARS) en la carne almacenada a 2°C en aerobiosis, y bajo iluminación durante 7 días, asociando sus resultados a una mejora del estado antioxidante total de la carne, aumentando su capacidad reductora y la capacidad de eliminación de radicales al suplementar la dieta con dichos polifenoles.

Martinaud et al. (1997) indicaron que las proteínas miofibrilares son susceptibles a la oxidación y que los fenómenos oxidativos tienen lugar durante la maduración de la carne junto a otros cambios *postmortem* como la disminución del pH muscular. La oxidación proteica comprende pérdidas de las propiedades funcionales de las proteínas (capacidad de retención de agua, de formación de geles y de formación de emulsiones entre otras), afectando a la calidad de la carne (Estévez et al., 2005). Por otra parte la oxidación proteica incluye la pérdida irreversible de aminoácidos esenciales y la alteración de la digestibilidad de las proteínas oxidadas lo que conduce a una merma considerable del valor nutritivo de la carne (Estévez et al., 2012). En nuestro estudio se observó un efecto de la dieta, del periodo de conservación y una interacción entre ambos factores sobre la formación de los grupos carbonilos. La concentración de grupos carbonilos aumentó significativamente de 6 a 12 días en los grupos GC, G150 y G300, mientras que en los grupos GMIX y GVE se mantuvo constante a lo largo de la conservación. Los grupos suplementados con vitamina E presentaron una menor oxidación de las proteínas (menos nmoles de carbonilo por mg de proteína), que los grupos GC, G150 y G300 a día 12 de conservación. También Muño et al. (2014) observaron un aumento de los grupos carbonilos con la conservación, encontrando en el grupo suplementado con vitamina E (300 mg dl- $\alpha$ -tocoferol/kg de alimento) las concentraciones más bajas en comparación con el grupo suplementado con polifenoles de vino tinto (900 mg de extracto de vino tinto/kg de alimento) y el grupo no suplementado con polifenoles tanto a los 6 como a los 12 días de conservación. Este efecto protector de la vitamina E incorporada en la dieta, sobre la formación de grupos carbonilos fue señalado por Estévez (2011). Santé-Lhoutellier et al. (2008) en carne fresca de cordero analizaron la evolución de los compuestos carbonilos a 4°C en oscuridad y envasada en film permeable durante 7 días. El nivel basal de grupos carbonilos fue de 2 nmol/mg de proteína, y se observó un incremento del 31,4% después de 7 días. Ellos mostraron que el grado de carbonilación se diferenciaba de una proteína a otra y que la dieta suplementada con  $\alpha$ -tocoferol presentó un efecto protector sobre la miosina pero no sobre la actina.

El papel de la oxidación de los lípidos en la iniciación de la oxidación de las proteínas en la carne ha sido objeto de gran debate, no está claro si la oxidación de lípidos origina la oxidación de proteínas, o viceversa, o si se acoplan ambos tipos de oxidación (Lund et al., 2011). Falowo et al. (2014) observaron que las cadenas de radicales libres de la oxidación de proteínas y la oxidación de lípidos en el músculo de los animales eran similares. Donde los radicales lipídicos e hidroperóxidos formados en las fases iniciales de la oxidación de las grasas podrían acoplarse a los átomos de hidrógeno de las proteínas adyacentes iniciando la oxidación de las mismas. Existe por tanto una interacción entre lípidos y proteínas durante las reacciones de oxidación en alimentos mediante la transferencia de radicales y otros productos de oxidación. Lo que concuerda con nuestros resultados ya que la carne con mayor concentración de grupos carbonilos presentó también mayor oxidación de lípidos con niveles de TBARS más altos. Para Stadtman y Levine (2003) las sustancias reactivas de oxígeno son las principales responsables de iniciar la oxidación de las proteínas, indicando además que la oxidación de los lípidos actúa como un factor que influye en la oxidación de proteínas. Para Xiong (2000) la oxidación de las proteínas está ligada a la aparición de cualquier sustancia prooxidante como son los peróxidos lipídicos. En presencia de estos, el proceso de oxidación proteica se desarrolla como una cascada de reacciones mediadas por radicales libres, de forma similar a la oxidación lipídica.

En nuestro estudio observamos que la suplementación de la dieta con antioxidantes no tuvo efecto sobre la concentración de los grupos tioles. En cambio el periodo de conservación afectó a los grupos tioles disminuyendo de forma significativa al aumentar el periodo de conservación. La disminución de los grupos tioles es indicativo de la oxidación de las proteínas (Delles et al., 2014).

### 5.7. COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS

La composición de la grasa influye en las características físicas y organolépticas de la carne, así como en su valor nutritivo (Warriss, 2000), por lo que es importante debido a su repercusión en la salud humana (Wahle et al., 2004; Kouba y Mourot, 2011).

En nuestro estudio los principales ácidos grasos presentes en la carne al inicio de la conservación fueron C18:1 con un 43,5%, C16:0 con un 23,3%, C18:0 con un 11,0% y C18:2n6 con un 7,3%. Nuestros resultados concuerdan con Díaz et al. (2005b), en corderos

engordados intensivamente, quienes encontraron estos mismos ácidos grasos mayoritarios, en el mismo orden pero con variaciones en su concentración.

Los ácidos grasos poliinsaturados que se encontraron en mayor proporción al día cero de conservación, fueron el C18:2n6 (7,3%), el C20:4n6 (2,2%) y el C22:6n3 (1,4%) lo que concuerda con lo señalado por Díaz et al. (2011), en corderos con dietas suplementadas con lino extrusado y aceite de pescado. Por el contrario se observó que los porcentajes medios de los ácidos grasos C18:3n3 (1,0%), C20:5n3 (0,7%) y C22:6n3 (1,4%) fueron superiores a los encontrados por Díaz et al. (2005b) en corderos criados en un sistema intensivo de producción y cebados con un pienso convencional (0,56%, 0,34% y 0,24% respectivamente). El mayor porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados de la carne del presente estudio comparado con el de Díaz et al. (2005b) se debe al enriquecimiento de la dieta con fuentes ricas en ácidos grasos n3 (lino y aceite de pescado) coincidiendo con Scollan et al. (2001), Bas et al. (2007) y Díaz et al. (2011).

En relación a los ácidos grasos saturados analizados no se observó efecto de la dieta en su proporción. Sólo se observó efecto del periodo de conservación en los SFA totales, y en C15:0, C16:0 y C17:0, manteniéndose o siendo superior el porcentaje a los doce días de conservación. Álvarez et al. (2009) encontraron que la proporción de SFA aumentó de 0 a 28 días en el grupo de corderos no suplementado con vitamina E, a causa de la disminución de los PUFA, ya que los datos se presentaban en porcentaje relativo del total de ácidos grasos. Muíño et al. (2014), tampoco encontraron un efecto de la dieta rica en polifenoles pero si del periodo de conservación en la proporción de SFA, que aumentó en la carne durante la conservación.

La suplementación de la dieta incidió en la proporción de MUFA y de C18:1, siendo menores en el grupo GMIX que en los grupos GC y G150, e intermedios en los grupos G300 y GVE. Para Ashes et al. (1992) y Wachira et al. (2002) la administración de dietas ricas en n3 disminuye el contenido de C18:1 y en consecuencia de MUFA en los lípidos polares del músculo, al producirse una exclusión competitiva del C18:1 por otros ácidos grasos más insaturados como el C22:6n3. Este efecto fue principalmente observado en el grupo GMIX y pudo deberse a un posible efecto sinérgico de los antioxidantes suplementados en la dieta, donde la vitamina E evitó la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados y al mismo tiempo los polifenoles inhibieron la biohidrogenación ruminal por lo que podría haber aumentado la

deposición de PUFA. Este efecto de los polifenoles en la biohidrogenación ruminal fue descrito recientemente por Jafari et al. (2016). Ellos observaron que los polifenoles podían disminuir la biohidrogenación de los ácidos grasos en el rumen aumentando de esta manera la deposición de PUFA en los tejidos.

Los MUFA totales y el monoinsaturado mayoritario C18:1 estuvieron también afectados por el periodo de conservación, registrándose un aumento del día 6 al 12. Álvarez et al. (2009) también observaron que la proporción en ácidos grasos MUFA aumentaba del día 0 al 14, debido principalmente al aumento de C18:1. Como se ha comentado anteriormente esto debido a la disminución en la proporción de los PUFA.

En relación a los ácidos grasos poliinsaturados, se observó un efecto de la dieta en la proporción de PUFA totales, n6, C18:2n6, C18:3n3 y C20:5n3, mostrando el grupo GMIX los porcentajes más elevados y el GVE intermedios respecto a GC, G150 y G300. Además se observó una interacción entre la dieta y el periodo de conservación en los ácidos grasos C20:4n6, n3, C22:5n3 y C22:6n3. La proporción de estos ácidos grasos se mantuvo constante en los grupos GVE y GMIX a lo largo de la conservación, mientras que en el resto de grupos disminuyó. Así al final del periodo de conservación (día 12) la proporción de estos ácidos grasos fue mayor en el grupo GMIX que en los GC, G150 y G300, e intermedia en el GVE.

Maiorano et al. (2016) al suplementar a corderos con vitamina E, observaron que el contenido de PUFA total fue mayor en comparación con el grupo control. Estos autores atribuyeron el mayor contenido de PUFA totales al efecto protector de la vitamina E contra la peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados. En nuestro estudio se observó una mayor proporción de PUFA total en las carnes de los corderos de los grupos GMIX y GVE que en el resto de los grupos, siendo significativa esta diferencia solo en el grupo GMIX.

La mayor estabilidad de estos ácidos grasos observada en los grupos GMIX y GVE puede ser explicada por la vitamina E incorporada a la dieta y su efecto antioxidante, y las mayores concentraciones en el grupo GMIX podrían estar relacionadas con la actuación conjunta de la vitamina E con los polifenoles, ya que los polifenoles inhiben la biohidrogenación ruminal, aumentando la deposición de PUFA (Jafari et al., 2016). Nieto et al. (2011) observaron que la combinación de vitamina E y polifenoles tenía un efecto sinérgico, ya que la vitamina E actúa como antioxidante en las fases tempranas de la oxidación lipídica, mientras que los polifenoles bloquean los procesos de peroxidación capturando los radicales libres. Fang y Wada (1993)

propusieron que el efecto sinérgico se debe a que los polifenoles regeneran la vitamina E, donando un átomo de hidrógeno al radical tocoferil que se forma cuando actúa el  $\alpha$ -tocoferol como antioxidante.

Teniendo en cuenta estos resultados y los valores de TBARS más bajos observados para la carne de los grupos GMIX y GVE, podemos indicar que, la suplementación en la dieta de los animales con vitamina E o vitamina E junto con el extracto de aceituna, contribuye a prevenir el deterioro de los lípidos por la oxidación lipídica y conservar el valor nutritivo de la carne durante su conservación.

Nuestros resultados coinciden con los de Kasapidou et al. (2012), quienes estudiaron concentraciones de 30 ppm a 500 ppm de acetato  $\alpha$ -tocoferol en la dieta de cordero, e informaron que solo las concentraciones 250 y 500 ppm de vitamina E en la dieta, fueron suficientes para proteger de la oxidación lipídica la carne de cordero, aunque estos autores no encontraron un efecto en el contenido de fosfolípidos ni en general en los ácidos grasos del músculo. En nuestro estudio como en el de Muñño et al. (2014), si se ha observado efecto protector de la vitamina E sobre los ácidos grasos poliinsaturados de la carne de cordero, con una mayor concentración de C22:6n3 y de ácidos grasos n3 de cadena larga el día 12 de almacenamiento.

Estudios realizados en corderos han puesto de manifiesto que al aumentar el contenido de determinados PUFA n3 en el músculo, como EPA y DHA, se reduce la estabilidad oxidativa de la carne aumentando su contenido en TBARS (Nute et al., 2007; Moloney et al., 2012), observándose correlaciones positivas entre el contenido en PUFA n3 del músculo y el nivel de oxidación lipídica. La susceptibilidad de los PUFA a la oxidación aumenta con el grado de insaturación (Raes et al., 2004), de tal manera que la susceptibilidad a la oxidación del C22:6n3 y del C18:3n3 es superior a la del C18:2n6. Por eso como se ha comentado anteriormente, al suplementar la dieta con PUFA n3, los niveles de TBARS observados fueron mayores a los reportados por autores que no suplementaron la dieta de los corderos con PUFA n3.

El periodo de conservación afectó a los ácidos grasos poliinsaturados, encontrándose la menor concentración de PUFA, n6, C18:2n6, C20:3n6, C18:3n3, C20:5n3, a los 12 días de conservación. Scollan et al. (2004) señalaron que la incorporación de fuentes de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, como en este estudio, puede aumentar la oxidación de lípidos

y disminuir su estabilidad durante la conservación. Teniendo en cuenta esta información y lo observado en nuestros resultados, la reducción de los ácidos grasos durante la conservación se debería a la lipólisis y a los fenómenos de oxidación (Álvarez et al., 2009).

Dentro de los PUFA, C18:2n6 y C18:3n3 se consideran ácidos grasos esenciales para los seres humanos, y C20:5n3 y C22:6n3 ácidos grasos que tienen efectos beneficiosos sobre la salud (Simopoulos, 2008). Por lo tanto, una reducción en la proporción de estos ácidos grasos puede ser considerada una reducción en el valor nutricional de la carne. En nuestro estudio, el grupo GMIX presentó las proporciones más altas de estos ácidos grasos a lo largo de la conservación, el grupo GVE proporciones intermedias durante la conservación, y los grupos GC, G150, G300 presentaron las proporciones más bajas de estos ácidos grasos.

Desde el punto de vista de la nutrición humana, uno de los índices más importantes es la relación n6/n3, la cual debería presentar un valor menor a 4 (Simopoulos, 2008). En nuestro estudio se observó una interacción significativa entre la dieta y el periodo de conservación en la relación n6/n3. En los grupos suplementados con vitamina E el valor de esta relación se mantuvo constante, de manera que a día 12 los grupos GVE y GMIX tuvieron los valores menores. Este menor valor de n6/n3 en los grupos suplementados con vitamina E nos indica una mayor estabilidad de los ácidos grasos n3 (que son más propensos a la oxidación al presentar mayor número de insaturaciones y mayor longitud de sus cadenas) durante el periodo de conservación como se ha explicado anteriormente. No obstante, en todos los grupos los valores de n6/n3 se encontraban dentro de los valores recomendados nutricionalmente.

La relación de PUFA/SFA es un indicador de la calidad nutricional de los lípidos en un alimento (Wood y Enser, 1997). Las relaciones PUFA/SFA y PUFA/SFA2 se vieron afectadas por la dieta, con un mayor valor en el grupo GMIX que en los grupos GC, G150 y G300. Además, se observó un efecto del periodo de conservación disminuyendo el valor de estos dos índices a lo largo de la conservación. Esta disminución de la relación PUFA/SFA se debe, como se ha comentado anteriormente, a la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga que, por presentar un mayor grado de insaturación, son más susceptibles de oxidarse.

El valor deseado de PUFA/SFA desde el punto de vista nutritivo es 0,4 o superior, lo que ha demostrado tener un efecto sobre la salud, reducción las concentraciones del colesterol total en plasma (McAfee et al., 2010). Teniendo en cuenta este dato, a día 12 el único grupo que

está dentro de este requerimiento es el grupo GMIX con un valor de 0,48. De modo que la suplementación con ambos antioxidantes permitió mantener una relación PUFA/SFA más adecuada al mantener una estabilidad mayor de los ácidos grasos de cadena larga que en el resto de los grupos.

## 5.8. ANÁLISIS SENSORIAL

Las propiedades sensoriales de la carne se consideran de gran importancia en la calidad de la misma (Liu et al., 1995). Siendo uno de los principales criterios para la aceptación del consumidor de un alimento enriquecido con PUFA (Ganesan et al., 2014). En nuestro estudio se observó una interacción entre la dieta y el periodo de conservación en la mayoría de los descriptores de olor y de flavor de la carne de cordero estudiados, así como en la apreciación global. Al inicio del periodo de conservación los parámetros de olor a cordero, de olores extraños, de flavor a cordero, de flavor a rancio y de flavor extraño, así como la apreciación global fueron similares para todos los grupos, que como indican Greene (1969) y Jeremiah (2001), podría deberse a que tampoco se aprecian diferencias significativas en relación a la oxidación lipídica el día cero de conservación. Tras la conservación, en los grupos GC, G150 y G300 se observó una disminución en la valoración de olor y flavor a cordero y un aumento en la valoración de olor y flavor extraño, disminuyendo consecuentemente la apreciación global, mientras que la valoración de flavor a rancio aumentó en los grupos GC y G150, coincidiendo con el aumento en los valores de TBARS del día 0 a los 6 días de conservación.

A día 6 la carne de los corderos suplementados con vitamina E obtuvieron las puntuaciones más altas para los parámetros olor y flavor a cordero y las más bajas para el olor y flavor extraño con una mayor apreciación global, hecho que también podría estar relacionado con los significativamente menores valores de TBARS.

Stapelfeldt et al. (1993) y Gil (2002) indicaron que hay una relación directa entre los valores de TBARS y la intensidad de los olores y sabores desagradables en carnes frescas y cocinadas. En nuestros resultados la mayor apreciación de olor y flavor extraño el día 6 de conservación, en los grupos GC, G150 y G300, se relaciona con los valores de TBARS más altos y por encima del límite de aceptabilidad propuesto por Campo et al. (2006) (2 µg de MDA/g de carne).

Muñoz et al. (2014), también observaron que durante el almacenamiento en la carne de cordero suplementada con vitamina E, no disminuían los atributos sensoriales de olor y flavor a cordero, obteniendo mejor aceptabilidad global. En el mismo sentido estos autores tampoco encontraron efecto beneficioso de los polifenoles incorporados a la dieta, en este caso procedentes de vino, sobre los parámetros sensoriales de la carne.

Para Maiorano et al. (2016) la carne de corderos tratados con vitamina E vía intramuscular, tendía a tener mejor flavor y menor oxidación lipídica. Describiendo un efecto protector de la vitamina E frente a la oxidación de los lípidos y mejora en la calidad sensorial de la carne.

Al igual que en nuestros resultados para O'Grady et al. (2006), la inclusión en la dieta de ganado bovino de 1.000 ppm de catequinas de té y de 1.000 ppm de extracto de romero no mejoraba significativamente el olor y el sabor de la carne conservada durante 6 días en MAP a 4°C. Los polifenoles citados tampoco ejercían un efecto antioxidante sobre las grasas, y a los 6 días de conservación los valores de TBARS estaban por encima de los 2 µg de MDA/g de carne tanto en el grupo control como en los suplementados con polifenoles.

En cambio Nieto et al. (2010a), observaron que la suplementación de corderos con destilados de hojas de romero reducía la puntuación de olor a rancio de la carne después de 14 días de almacenamiento a 4°C en MAP y exponiendo la carne en una vitrina iluminada con luz blanca fluorescente. Estos autores atribuyeron este efecto a los diterpenos del romero (ácidos carnósico, carnosol, rosmanol, epirosmanol, isorosmanol, y rosmarínico), que actuaban como conservantes potentes contra los procesos oxidativos aumentando la estabilidad de los lípidos.

En otro estudio de Nieto et al. (2010b), los polifenoles de tomillo suplementados en la dieta tenían un efecto beneficioso sobre la calidad sensorial de la carne, aumentando con la conservación la puntuación de olor y flavor a rancio en las muestras control pero no en las muestras suplementadas, que también presentaban niveles más bajos de oxidación lipídica. Estos autores atribuyeron este resultado a la capacidad antioxidante de los terpenoides fenólicos del tomillo.

En los parámetros de ternura y masticabilidad, atributos decisivos para evaluar la aceptación por parte del consumidor (McCormick, 2009), se observó una interacción entre la dieta y el periodo de conservación. El día 0 de conservación no se observaron diferencias entre grupos, pero en los grupos suplementados con vitamina E aumentó la ternura y disminuyó la

masticabilidad a lo largo de la conservación. La diferencia de ternura detectada, puede estar relacionada con la activación de las enzimas calpaínas y calpastatinas, responsables de la proteólisis *post-mortem*. Sin embargo, estas enzimas son particularmente susceptibles a la oxidación, que produce la inactivación o modificación de su actividad (Huff-Lonergan et al.,

***CONCLUSIONES***

---

## 6. CONCLUSIONES

- 1.- El crecimiento de los corderos se ha visto mejorado al suplementar de forma conjunta el extracto de aceituna rico en polifenoles y la vitamina E (1.500 ppm de extracto de aceituna y 300 ppm de vitamina E), con una mayor ganancia media diaria.
- 2.- La suplementación con vitamina E (300 ppm) mejoró el estatus antioxidante inicial de la carne, con un mayor contenido de polifenoles totales en hígado, y de vitamina E en músculo, además de una mayor actividad de la enzima GPX cuando se suplementaba de forma conjunta con el extracto de aceituna (1.500 ppm).
- 3.- La suplementación con extracto de aceituna a una dosis de 3.000 ppm tendió a mantener el color de la carne enriquecida en ácidos grasos n3 y conservada en MAP durante 12 días. No obstante la mayor estabilidad del color se observó en los grupos suplementados con vitamina E.
- 4.- La suplementación de la dieta de los corderos con vitamina E (300 ppm), ha mostrado tener un efecto antioxidante claro en la carne de cordero enriquecida en ácidos grasos n3, reduciendo la oxidación lipídica y proteica durante la conservación en MAP. En cambio, las dosis utilizadas del extracto de aceituna rico en polifenoles (1.500 y 3.000 ppm) no han sido efectivas para evitar los procesos oxidativos de la carne enriquecida en ácidos grasos n3.
- 5.- Se ha observado un efecto sinérgico entre los dos antioxidantes, extracto de aceituna rico en polifenoles y vitamina E (1.500 ppm y 300 ppm respectivamente) en el contenido en ácidos grasos PUFA y n3 en la carne, que fueron además más estables durante la conservación de la misma en MAP.
- 6.- En cuanto a las características sensoriales de la carne, las puntuaciones más altas en los parámetros de flavor y olor a cordero, de ternura, y por tanto la mayor apreciación global de la carne tras 6 días de conservación en MAP se observaron en la carne de los corderos suplementados con vitamina E.

## ***BIBLIOGRAFÍA***

---

---

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Abheri, D.S., Anisur R.M., Ghosh, A.K. (2010). Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 1, 185-192.

Abril, R., Garret, J., Zeller, S.G., Sande, W.J., Mast, R.W. (2003). Safety assessment of DHA-rich microalgae from *Schizochytrium sp.*: Part V. Target animal safety/toxicity in growing swine. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 37, 73-82.

Adams, J.R., Huffman, D.L. (1972). Effect of controlled gas atmospheres and temperature on quality packaged pork. *J. Food Sci.*, 37, 869-375.

Ahmad, J.I. (1996). Free radicals and health: is vitamin E the answer?. *Food Sci. Technol.*, 3, 147-152.

Ahn, J., Grün, I.U., Fernando, L.N. (2002). Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. *J. Food Sci.*, 67, 1364-1369.

Ahn, J., Grün, I.U., Mustapha, A. (2007). Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiol.*, 24, 7-14.

Alasalvar, C., Grigor, J.M., Zhang, D., Quantick, P.C., Shahidi, F. (2001). Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 1410-1416.

Allen, C.E., Foegeding, E.A. (1981). Some lipid characteristics and interaction in muscle foods. A review. *Food Technol.*, 35, 253-257.

Álvarez, I., De la Fuente, J., Cañeque, V., Lauzurica, S., Pérez, C., Díaz, M.T. (2009). Changes in the fatty acid composition of *M. longissimus dorsi* of lamb during storage in a high-oxygen modified atmosphere at different levels of dietary vitamin E supplementation. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 140-146.

Andersen, H.J., Oksbjerg, N., Young, J.F., Therkildsen, M. (2005). Feeding and meat quality - a future approach. *Meat Sci.*, 70, 543-554.

- Andreo, A., Garro, O., Judis, M. (2001). Modelo de oxidación lipídica en una emulsión cárnica en función del tiempo y temperatura de cocción. *Información Tecnológica*, 12(4), 21-24.
- Anton, M., Salgues, C., Renerre, M. (1993). Etude des relations oxidatives entre les lipides membranaires et la myoglobine in vitro. *Sci. Alimentarie*, 13, 261-274.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I., y Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the Cuprac assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
- Appleton, K.M., Rogers, P.J., Ness, A.R. (2010). Updated systematic review and meta-analysis of the effects of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on depressed mood. *Am. J. Clin. Nutr.*, 91, 757-770.
- Arnold, R.N., Arp, S.C., Scheller, K.K., Williams, S.N., Schaefer, D.M. (1993). Tissue equilibration and subcellular distribution of vitamin E relative to myoglobin and lipid oxidation in displayed beef. *J. Anim. Sci.*, 71, 105-118.
- Asghar, A., Gray, J.I., Booren, A.M., Gomaa, E.A., Abouzied, M.M., Miller, E.R. (1991). Effects of supranutritional dietary vitamin E levels on subcellular deposition of  $\alpha$ -tocopherol in the muscle and on pork quality. *J. Sci. Food Agric.*, 57, 31-41.
- Ashes, J.R., Siebert, B.D., Gulati, S.K., Cuthbertson, A.Z., Scott, T.W. (1992). Incorporation of n-3 fatty acids of fish oil into tissue and serum lipids of ruminants. *Lipids*, 27, 629-631.
- Atti, N., Rouissi, H., Mahouachi, M. (2004). The effect of dietary crude protein level on growth, carcass and meat composition of male goat kids in Tunisia. *Small Rumin. Res.*, 54, 89-97.
- Azzi, A., Davies, K.J.A., Kelly, F. (2004). Free radical biology-terminology and critical thinking. *FEBS Lett.*, 558, 3-6.
- Bailey, A.J., Euser, M.B., Dransfield, E., Restall, D.J., Arery, N.C. (1982). ). Muscle and adipose tissue from normal and double muscled cattle: collagen types, muscle fibre diameter, fat cell size and fatty acid composition and organoleptic properties. In: *Muscle hipertrophy of*

genetic origin and its use to improve beef production. Eds. King J.W.B. and Menissier F. Martjnus Nijhoff Publisher. Londres, United Kingdom, pp. 178-202.

Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem.*, 99, 191-203.

Bas, P., Berthelot, V., Pottier, E., Normand, J. (2007). Effect of level of linseed on fatty acid composition of muscles and adipose tissues of lambs with emphasis on trans fatty acids. *Meat Sci.*, 77, 678-688.

Bavaresco, L. (2003). Role of viticultural factors on stilbene concentrations of grapes and wine. *Drugs Exp. Clin. Res.*, 29, 181-187.

Bazan, N.G. (1992). *Nestle Nutrition. Workshop Series*, 28, 121-133.

Becker, P.M., van Wikselaar, P.G., Franssen, M.C., de Vos, R.C., Hall, R.D. (2014). Evidence for a hydrogen-sink mechanism of (+) catechin-mediated emission reduction of the ruminant greenhouse gas methane. *Metabolomics*, 10(2), 179-189.

Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuno, A., Del Rio, J.A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europe L.* leaves. *Food Chem.*, 68, 457-462.

Bender, D.A. (2003). Vitamin E: Tocopherol and tocotrienol. In: *Nutritional biochemistry of the vitamins*. Ed. Bender, D.A. Cambridge University Press Publisher. Cambridge pp. 109-130.

Berg, R.T., Butterfield, R.M. (1976). *New Concepts of Cattle Growth*. Eds. Berg, R.T., Butterfield, R.M. University of Sydney Press Publisher, Sydney. Australia. pp. 240.

Berlett, B.S., Stadtman, E.R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J. Biol. Chem.*, 272, 20313-20316.

Bertram, H.C., Kristensen, M., Østdal, H., Baron, C.P., Young, J.F., Andersen, H.J. (2007). Does oxidation affect the water functionality of myofibrillar proteins?. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 2342-2348.

Blumberg, J.B. (2006). Rat gastrointestinal tissues metabolize quercetin. *J. Nutr.*, 136, 39-44.

- Bodwell, C.E., Adkins, J.S., Hopkins, D.T. (1981). Protein quality in humans: assessment and in vitro estimation. Eds. Bodwell, C.E., Adkins, J.S., Hopkins, D.T. Avi. Publisher. Wesport, Connecticut. USA. pp. 435.
- Bodwell, C.E., Anderson, B.A. (1986). Nutritional composition and value of meat and meat products. In: Muscle as Food. Food Science and Technology. Ed. Bechtel, P.J. Academic Press Publisher, New York, USA. pp. 332.
- Bolli, A., Marino, M., Rimbach, G., Fanali, G., Fasano, M., Ascenzi, P. (2010). Flavonoid binding to human serum albumin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 398, 444-449.
- Bonanone, A., Grundy, S.M. (1987). Stearic acid does not raise serum cholesterol. *Clin. Res.*, 35, 365-369.
- Boskou, D. (2000). Olive oil. *World Rev. Nutr. Diet.*, 87, 56-77.
- Botsoglou, N. A., Govaris, A., Giannenas, I., Botsoglou, E., Papageorgiou, G. (2007). The incorporation of dehydrated rosemary leaves in the rations of turkeys and their impact on the oxidative stability of the produced raw and cooked meat. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 58(4), 312-320.
- Bramley, P.M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F.J., Manios, Y., Roxborough, H.E., Schuch, W.; Sheehy, P.J.A., Wagner, K. (2000). Vitamin E. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 913-938.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.*, 56(11), 317-333.
- Bravo-Lamas, L., Barron, L.J.R., Etaio, I., Aldai N. (2015). Perfil de ácidos grasos de la carne de cordero comercializada en la comunidad autónoma del país vasco y navarra. AIDA XVI Jornadas sobre Producción Animal, Tomo II, 648-650.
- Brenes, M., García, A., García, P., Rios, J. J., Garrido, A. (1999). Phenolic compounds in Spanish olive oils. *J. Agric. Food Chem.*, 47(9), 3535-3540
- Brennan, L.A., Morris, G.M., Wasson, G.R., Hannigan, B.M., Barnett, Y.A. (2000). The effect of vitamin C or vitamin E supplementation on basal and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>- induced DNA damage in human lymphocytes. *Br. J. Nutr.*, 84, 195-202.

- Brennand, C.P., Ha, J.K., Lindsay, R.C. (1989). Aroma properties thresholds of some branched-chain and other minor volatile fatty acids occurring in milkfat and meat lipids. *J. Sensory Stud.*, 4, 105-120.
- Buckley, D.J., Gray, J.I., Asghar, A., Price, J.F., Crackel, R.L., Booren, A.M., Pearson, A.M., Miller, E.R. (1989). Effects of dietary antioxidants and oxidized oil on membranal lipid stability and pork product quality. *J. Food Sci.*, 54, 1193-1997.
- Buckley, D.J., Morrissey, P.A., Gray, J.I. (1995). Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. *J. Anim. Sci.*, 73, 3122-3130.
- Buttriss, J.L., Diplock, A.T. 1984. High-performance liquid chromatography methods for vitamin E in tissues. *Methods Enzymol.*, 105, 131-138.
- Buxadé, C. (2009). El sector ovino; realidad y perspectivas. En: *Ovinotecnia: Producción y Economía en la especie ovina*. Eds. Sañudo C. y Cepero R. Prensas Universitarias de Zaragoza, Zaragoza, España. pp. 19-32.
- Caballero, B., Sierra, V., Vega-Nerado, I., Tomás-Zapico, C., Rodríguez-Colunga, M.J., Tolivia, D., Hurdeland, R., Oliván, M., Coto-Montes, A. (2006). Enzimas antioxidantes en la maduración de la carne de vacuno procedente de dos cabañas autóctonas asturianas. *ITEA*, 102(3), 288-303.
- Cabrini, L., Barzanti, V., Cipollone, M., Fiorentini, D., Grossi, G., Tolomelli, B., Zambonin, L., Landi, L. (2001). Antioxidants and total peroxy radical-trapping ability of olive and seed oils. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 6026-6032.
- Calder, P.C. (2001). Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Lipids*, 36, 1007-1024.
- Campo, M.M., Nute, G.R., Hughes, S.I., Enser, M., Wood, J.D., Richardson, R.I. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Sci.*, 72, 303-311.
- Cañeque, V., Sañudo, C. (2000). Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. *Monografías INIA: Serie Ganadera*. Madrid: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). pp. 255.

- Cañeque, V., Sañudo, C. (2005). Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA: Serie Ganadera. n° 3. Madrid: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). pp. 445.
- Caporaso, E., Sink, J.D., Dimick, P.S., Mussinan, C.J., Sauderson, A. (1977). Volatile flavor constituents of ovine adipose tissue. *J. Agric. Food Chem.*, 25, 1230-1233.
- Cayuela, J.M., Garrido, M.D., Bañón, S.J., Ros, J.M. (2003). Simultaneous HPLC analysis of  $\alpha$ -tocopherol and cholesterol in fresh pig meat. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1120-1124.
- Cecarini, V., Gee, J., Fioretti, E., Amici, M., Angeletti, M., Eleuteri, A.M., Keller, J.N. (2007). Protein oxidation and cellular homeostasis: emphasis on metabolism. *Biochim. Biophys. Acta.* 1773, 93-104.
- Chang, S.S., Petterson, R.J. (1977). Symposium: The basis of quality in muscle foods. Recent developments in the flavor of meat. *J. Food Sci.*, 42, 298-305.
- Chang, T.S., Evans, R., Hood, R.L. (1980). Sire effect of fatty acid composition of ovine adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 51, 1314-1320.
- Chaudiere, J., Ferrari-Iliou, R. (1999). Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem. Toxicol.*, 37, 949-962.
- Chihuailaf, R.H., Contreras, P.A., Wittwer, F.G. (2002). Pathogenesis of oxidative stress: consequences and evaluation in animal health. *Veterinaria México*, 33(3 (2)), 265-283.
- Chikunya, S., Demirel, G., Enser, M., Wood, J., Wilkinson, R., Sinclair, L. (2004). Biohydrogenation of dietary n-3 PUFA and stability of ingested vitamin E in the rumen, and their effects on microbial activity in sheep. *Br. J. Nutr.*, 91, 539-550.
- Choe, E., Min, D. (2009). Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. *Comprehensive reviews in food science and food safety. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 8(4), 345-358
- Choe, E., Min, D.B. (2005). Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *J. Food Sci.*, 70,142-59.

Choi, N.J., Enser, M., Wood, J.D., Scollan, N.D. (2000). Effect of breed on the deposition in beef muscle and adipose tissue of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids. *Anim. Sci.*, 71, 509-519.

Cole, G.M., Frautschy, S.A. (2010). DHA may prevent age-related dementia. *J. Nutr.*, 140, 869-74.

Comission Internacionale de l'Eclairage (CIE). (1986). *Colorimetry*, 2nd Ed. Vienna.

Coppen, P.P. (1983). Use of antioxidants. In: *Rancidity in foods*. Eds Allen J. C., Hamilton R. J., London Applied Science Publisher. New York, USA. pp. 76.

Cornforth, D. (1999). Color, Its basis and importance. In: *Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products*. Eds. Pearson, A.M., Dutson, T.R. Springer US Publisher, USA. pp. 34-78.

Cortell, J.M., Kennedy, J.A. (2006). Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (*Vitis vinifera L.*) pinot noir fruit and extraction in a model system. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 8510-8520.

Criado, C., Moya, M. (2009). Vitaminas y antioxidantes. En: *Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid*. Ed. Sanidad ediciones, S. L. Madrid, España. pp. 10-16.

D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità*, 43(4), 348-361.

D'Alessandro, A.G., Maiorano, G., Kowaliszyn, B., Loiudice, P., Martemucci, G. (2012). How the nutritional value and consumer acceptability of suckling lambs meat is affected by the maternal feeding system. *Small Rumin. Res.*, 106, 83-91.

Davies, M.J., Dean, R.T. (1997). *Radical-mediated Protein Oxidation*. Eds. Davies, M.J., Dean, R.T. Oxford Science Publications Publisher. pp. 456.

Daza, A., Lopez Bote, C.J., Rey, A. (2003). Influencia de la vitamina E sobre algunas características de la calidad de la carne de corderos ligeros. *Ganadería*, 22, 72-77.

De la Fuente, J., Álvarez, I., Díaz, M.T., Pérez, C., Cañeque, V. (2005). Determinación de los pigmentos de la carne por espectrofotometría. En: *Estandarización de las metodologías para*

evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Eds Cañeque V. y Sañudo C. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ministerio de Educación y Ciencia. Madrid, España. pp. 226-236.

De la Puerta, R., Martínez Domínguez, M.E., Ruíz-Gutiérrez, V., Flavill, J.A., Hoult, J.R. (2001). Effects of virgin olive oil phenolics on scavenging of reactive nitrogen species and upon nitrenergic neurotransmission. *Life Sci.*, 69(10), 1213-1222.

Dean, R., Fu, S., Stocker, R., Davies, M. J. (1997). Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J.*, 324(1), 1-18.

Deaville, E.R., Givens, D.I., Blake, J.S. (2004). Dietary supplements of whole linseed and vitamin E to increase levels of  $\alpha$ -linolenic acid and vitamin E in bovine milk. *Anim. Res.*, 53, 3-12.

Debier, C., Larondelle, Y. (2005). Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. *Br. J. Nutr.*, 93(2), 153-174.

Decker, E.A. (2002). Antioxidant mechanisms. In: Food lipids. Eds. Akoh, C.C., Min, D.B. Marcel Dekker Publisher, New York, USA. pp. 517-542.

Decker, E.A., Warner, K., Richards, M. P., Shahidi, F. (2005). Measuring antioxidant effectiveness in food. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4303-4310.

Decker, E.A., Xiong, Y.L., Calvert, J.T., Crum, A.D., Blanchard, S.P. (1993). Chemical, physical, and functional properties of oxidized turkey white muscle myofibrillar proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 41, 186-189.

DeJong, S., Lanari, M.C. (2009). Extracts of olive polyphenols improve lipid stability in cooked beef and pork: contribution of individual phenolics to the antioxidant activity of the extract. *Food Chem.*, 116, 892-897.

Delgado-Zamarreño, M.M., Bustamante-Rangel, M., Sánchez-Perez, A., Hernández-Méndez, J. (2001). Analysis of vitamin E isomers in seeds and nuts with and without coupled hydrolysis by liquid chromatography and coulometric detection. *J. Chrom. A*, 935, 77-86.

- Delles, R.M., Xiong, Y.L., True, A.D., Ao, T., Dawson, K.A. (2014). Dietary antioxidant supplementation enhances lipid and protein oxidative stability of chicken broiler meat through promotion of antioxidant enzyme activity. *Poultry Sci.*, 93, 1561-1570.
- Delmas, D., Lancon, A., Colin, D., Jannin, B., Latruffe, N. (2006). Resveratrol as a chemopreventive agent: a promising molecule for fighting cancer. *Curr. Drug Targets*, 7, 423-442.
- Demirel, G., Wachira, A.M., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Wood, J.D., Enser, M., (2004). Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids, breed and dietary vitamin E on the fatty acids of lamb muscle, liver and adipose tissue. *Br. J. Nutr.*, 91, 551-565.
- Department of Health. (1994). Nutritional aspects of cardiovascular disease: Report of the Cardiovascular Review Group, Committee on Medical Aspects of Food Policy, vol. 46. Eds: Great Britain, Department of Health. H.M. Stationery Office Publisher, London. pp. 186.
- Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., Michaud, P. (2013). Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry*, 48, 1532-1552.
- Descalzo, A., Rossetti, L., Grigioni, G. (2007). Antioxidant status and odour profile in fresh beef from pasture or grain-fed cattle. *Meat Sci.*, 75, 299-307.
- Descalzo, A.M., Insani, E.M., Biolatto, A., Sancho, A.M., Garcia, P.T., Pensel, N.A., Josifovich, J.A. (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Sci.*, 70, 35-44.
- Devcich, D.A., Pedersen, I.K., Petrie, K.J. (2007). You eat what you are: modern health worries and the acceptance of natural and synthetic additives in functional foods. *Appetite*, 48, 333-337.
- Díaz, M.T., Álvarez, I., De la Fuente, J., Sañudo, C., Campo, M.M., Oliver, M.A., Fonti Furnols, M., Montossi, F., San Julián, R., Nute, G.R., Cañeque, V. (2005b). Fatty acid composition of meat from typical lamb production systems of Spain, United Kingdom, Germany and Uruguay. *Meat Sci.*, 71, 256-263.

Díaz, M.T., Cañeque, V., Sánchez, C.I., Lauzurica, S., Pérez, C., Fernández, C., Álvarez, I., De la Fuente, J. (2011). Nutritional and sensory aspects of light lamb meat enriched in n-3 fatty acids during refrigerated storage. *Food Chem.*, 124, 147-155.

Díaz, M.T., Sánchez, M., Martínez, B., Vieira, C., García, M.D. (2005a). Valor nutritivo de la carne. Determinación del contenido energético. En: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Eds Cañeque V. y Sañudo C. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ministerio de Educación y Ciencia. Madrid, España. pp. 274-281.

Díaz, M.T., Velasco, S., Cañeque, V., Lauzurica, S., Huidobro, F.R., Pérez, C., Gonzalez, J., Manzanares, C. (2002). Use of concentrate or pasture for fattening lambs and its effect on carcass and meal quality. *Small Rumin. Res.*, 43, 257-268.

Díaz-Acosta, A., Membrillo-Hernández, J. (2006). Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químicas*, 9. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43290105>, Fecha de consulta: 20 de octubre de 2016.

Driss, F., El-Benna, J. (2010). Antioxidant Effect of Hydroxytyrosol, a Polyphenol from Olive Oil by Scavenging Reactive Oxygen Species Produced by Human Neutrophils. In: *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, capítulo 143. Eds. Preedy, V.R. and Watson, R.R. Academic Press Publisher, San Diego, USA. pp. 1289-1294.

Dupuy, H.P., Bailey, M.E., St. Angelo, A.J., Vercellotti, J.R., Legendre, M.G. (1987). Instrumental analysis of volatiles related to warmed-over flavor of cooked meats. In: *Warmed-Over Flavor of Meat*. Eds. St. Angelo, A.J.; Bailey, M.E. Academic Press Publisher. Orlando, FL. USA. pp. 165-191.

Duthie, G.G., Duthie, S., Kyle, J.A.M. (2000). Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutr. Res. Rev.*, 13, 79-106.

EFSA (European Food Safety Authority) (2010b). Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*, 8(1461), 1-107.

EFSA (European Food Safety Authority). (2009). Draft Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. Request N° EFSA-Q-2008-466.

EFSA (European Food Safety Authority). (2010a). Outcome of the public consultation on the draft opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition, and allergies (NDA) on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. EFSA ON-1507, 1-23.

Enser, M. (1987). What is lipid oxidation? *Food Sci. Technol. Today*, 1, 151-153.

Enser, M., Hallett, K. G., Hewitt, B., Fursey, G. A., Wood, J. D., Harrington, G. (1998). Fatty acid content and composition of UK beef and lamb muscle in relation to production system and implications for human nutrition. *Meat Sci.*, 49, 329-341.

Enser, M., Scollan, N.D., Choi, N.J., Kurt, E., Wood, J.D. (1999). Effect of dietary lipid on the content of conjugated linoleic acid (CLA) in beef muscle. *J. Anim. Sci.*, 69, 143-146.

Estévez, M. (2011). Protein carbonyls in meat system: a review. *Meat Sci.*, 89, 259-279.

Estévez, M., Cava, R. (2006). Effectiveness of rosemary essential oil as an inhibitor of lipid and protein oxidation: contradictory effects in different types of frankfurters. *Meat Sci.*, 72, 348-355.

Estévez, M., Morcuende, D., Ventanas, S., Barroso, J.V. (2012). Oxidación de proteínas cárnicas (I): importancia científica y tecnológica. *Eurocarne: La revista internacional del sector cárnico*, 208, 56-65.

Estévez, M., Ventanas, S., Cava, R. (2005). Protein oxidation in frankfurters with increasing levels of added rosemary essential oil: effect on colour and texture deterioration. *J. Food Sci.*, 70, 427-432.

Estévez, M., Ventanas, S., Cava, R. (2007). Oxidation of lipids and proteins in frankfurters with different fatty acid compositions and tocopherol and phenolic contents. *Food Chem.*, 100, 55-63.

- Falowo, A.B., Fayemi, P.O., Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Res. Int.*, 64, 171-181.
- Fang, X., Wada, S. (1993). Enhancing the antioxidant effect of  $\alpha$ -tocopherol with rosemary in inhibiting catalyzed oxidation caused by Fe<sup>2+</sup> and hemoprotein. *Food Res. Int.*, 26, 405-411.
- FAOSTAT (2014). Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura, dirección estadística. Disponible en <http://faostat3.fao.org/home/E>. Fecha de consulta. 25 octubre 2016.
- Fasseas, M.K., Mountzouris, K.C., Tarantilis, P.A., Polissiou, M., Zervas, G. (2007). Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chem.*, 106, 1188-1194.
- Faustman, C., Cassens, R.G., Schaefer, D.M., Buege, D.R., Scheller, K.K. (1989a). Vitamin E supplementation of Holstein steer diets improves sirloin steak colour. *J. Food Sci.*, 54, 485-486.
- Faustman, C., Cassens, R.G., Schaefer, D.M., Buege, D.R., Williams, S.N., Scheller, K.K. (1989b). Improvement of pigment and lipid stability in holstein steer beef by dietary supplementation with vitamin E. *J. Food Sci.*, 54, 858-862.
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R., Suman, S.P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. *Meat Sci.*, 86, 86-94.
- Finch, J., Turner, R. (1996). Effects of selenium and vitamin E on the immune responses of domestic animals. *Res. Vet. Sci.*, 60(2), 97-106.
- Fitó, M., de la Torre, R., Farré-Albaladejo, M., Khymenetz, O., Marrugat, J., Covas, M.I. (2007). Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenolic compounds in humans: a review. *Ann. Ist. Super. Sanita*, 43(4), 375-381.
- Forrest, J.C., Aberle, E.D., Hedrick, H.B., Judge, M.D., Merkel, R.A. (1979). *Fundamentos de ciencia de la carne*. Ed. Acribia, Zaragoza, España. pp. 364.
- Frank, S., Messaro, D. (1980). Oxygen toxicity. *Am. J. Med.*, 69, 117-126.

Frankel, E.N. (1991). Recent advances in lipid oxidation. A review. *J. Sci. Food Agric.*, 54, 495-511.

Frankel, E.N. (1998): *Lipid oxidation*. Dundee: Oily Press Publisher, Scotland. pp. 303.

Frankel, E.N., Huang, S.W., Aeschbach, R., Prior, E. (1996a). Antioxidant activity of rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in water emulsion. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 131-135.

Frankel, E.N., Huang, S.W., Prior, E., Aeschbach, R. (1996b). Evaluation of antioxidant activity of rosemary extracts, carnosol and carnosic acid in bulk vegetable oils and fish oils and their emulsions. *J. Sci. Food Agric.*, 72, 201-208.

Frederiksen, A.M., Lund, M.N., Andersen, M.L., Skibsted, L.H. (2008). Oxidation of porcine myosin by hypervalent myoglobin: the role of thiol groups. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 3297-3304.

Fry, J.M., Smith, G.M., McGrath, M.C., Speijers, E.J., Allen, J.G. (1993). Plasma and tissue concentrations of alpha-tocopherol during vitamin E depletion in sheep. *Br. J. Nutr.*, 69, 225-232.

Gallardo, H. (2014). Nitrocatecoles derivados de hidroxitirosol. Síntesis, biodisponibilidad y evaluación de su capacidad antioxidante y neuroprotectora. Tesis doctoral. Universidad de Málaga. Málaga, España.

Ganesan, B., Brothersen, C., McMahon, D.J. (2014). Fortification of foods with omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Crit. Rev Food Sci. Nutr.*, 54(1), 98-114.

Ganhão, R., Morcuende, D., Estévez, M. (2010). Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Sci.*, 85, 402-409.

Gasperi, F., Biasioli, F., Gallerani, G., Fasoli, S., Piasentier, E. (2005). Training of a sensory panel for quantitative descriptive analysis of lamb meat. *Ital. J. Food Sci.*, 17, 255-268.

Gatellier, P., Mercier, Y., Renerre, M. (2004). Effect of diet finishing mode (pasture or mixed diet) on antioxidant status of charolais bovine meat. *Meat Sci.*, 67, 385-394.

- German, J.B., Dillard, C.J. (2006). Composition, structure and absorption of milk lipids: a source of energy, fat-soluble nutrients and bioactive molecules. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 46, 57-92.
- Gil, M. (2015). Extracción de Hidroxitirosol de alperujo de almazaras. Trabajo fin de grado. Universidad Politécnica de Madrid Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Madrid, España.
- Gil, M.D. (2002). Efecto del método de cocinado y de la suplementación de la dieta con vitamina E sobre la calidad de la carne de cerdo durante su almacenamiento en refrigeración. Tesis doctoral. Universidad de Murcia. Murcia, España.
- Givens, D.I., Cottrill, B.R., Davies, M., Lee, P.A., Mansbridge, R.J., Moss, A.R. (2000). Sources of n-3 polyunsaturated fatty acids additional to fish oil for livestock diets - a review. *Nutr. Abstracts Rev., Ser. B, Livestock Feeds Feed.*, 70, 1-19.
- Gladine, C., Morand, C., Rock, E., Gruffat, D., Bauchart, D., Durand, D. (2007a). The antioxidative effect of plant extracts rich in polyphenols differs between liver and muscle tissues in rats fed n-3 PUFA rich diets. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 139, 257-272.
- Gladine, C., Rock, E., Morand, C., Bauchart, D., Durand, D. (2007b). Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *Brit. J. Nutr.*, 98, 691-701.
- Gobert, M., Gruffat, D., Habeanu, M., Parafita, E., Bauchart, D., Durand, D., 2010. Plant extracts combined with vitamin E in PUFA-rich diets of cull cows protect processed beef against lipid oxidation. *Meat Sci.*, 85, 676-683.
- Godber, J.S. (1994). Nutritional Value of Muscle Foods. In: *Muscle Foods. Meat Poultry and Seafood Technology*. Eds. Kinsman D.M., Kotula A.W., Breidenstein B.C. Springer US Publisher, New York, USA. pp. 430-455.
- González San José, M.J., Muñiz Rodríguez, P., Valls Bellés, V. (2001). Actividad antioxidante de la cerveza: estudios in vitro e in vivo. *Centro de Información Cerveza y Salud, cerveceros España. Madrid, España*, 8,1-57.
- Gordon, M.H. (1996). Dietary antioxidants in disease prevention. *Nat. Prod. Rep.*, 265, 273.

- Goutenfoega, R., Valin, C. (1976). Etude comparée de la saveur des viandes de vaches et de taurillons. Relation entre la composition du muscle et la saveur de la viande. *European Meet. of Meat Res. Workers*, 22. Malmö. Swedish Meat Research Centre, Vol I, A8:1-12.
- Granados-Principal, S., Quiles, J.L., Ramirez-Tortosa, C.L., Sanchez-Rovira, P., Ramirez-Tortosa, M.C. (2010). Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials. *Nutr. Rev.*, 68(4), 191-206.
- Gray, J.I. (1978). Measurement of lipid oxidation: a review. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 55, 697-704.
- Gray, J.I., Crackel, R.L. (1992). Oxidative flavour changes in meat: Their origin and prevention. In: *The Chemistry of Muscle-Based Foods*. Eds. Johnston. E., Knight, K.M. Ledward, D.A. Cambridge, Royal Society of Chemistry Publisher. pp. 145-168.
- Gray, J.I., Monahan, F.J. (1992). Measurement of lipid oxidation in meat and meat products. *Trends Food Sci. Tech.*, 3, 315-319.
- Gray, J.I., Goma, E.A., Buckley, D.J. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Sci.*, 43(S), S111-S123.
- Greene, B.E. (1969). Lipid oxidation and pigment changes in raw beef. *J. Food Sci.*, 34, 110-113.
- Greene, B.E., Hsin, I.M., Zipser, M.Y.M. (1971). Retardation of oxidative color changes in raw ground beef. *J. Food Sci.*, 36, 940-942.
- Guadalupe, Z., Soldevilla, A., Saenz-Navajas, M.P., Ayestaran, B. (2006). Analysis of polymeric phenolics in red wines using different techniques combined with gel permeation chromatography fractionation. *J. Chromatogr. A*, 1112, 112-120.
- Guardiola, F., Cabony, R., Addis, P.B., Rafecas, M., Boatella, J. (1996). Biological effects of oxysterols: current status. *Food Chem. Toxicol.*, 34, 193.
- Guidera, J., Kerry, J.P., Buckley, D.J., Lynch, P.B., Morrissey, P.A. (1997). The effect of dietary vitamin E supplementation on the quality of fresh and frozen lamb meat. *Meat Sci.*, 45, 33-43.

- Hacquebard, M., Vandenbranden, M., Malaisse, W.J., Ruyschaert, J.M., Deckelbaum, R.J., Carpentier, Y.A. (2008). Vitamin E transfer from lipid emulsions to plasma lipoproteins: mediation by multiple mechanisms. *Lipids*, 43(7), 663-671
- Hagerman, A.E. (2002). Tannin Handbook. In: Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University, USA. pp. 1.
- Halliwell, B. (1999). Antioxidant defense mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic.*, 31, 261-272.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford, Eds. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. University Press Oxford Publisher, UK. pp. 980.
- Halliwell, B., Rafter, J., Jenner, A. (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, 268-276.
- Hamilton, R.J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F.B., Pierce, H. (1997). Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chem.*, 60, 193-199.
- Hamm, R. (1963). Die Mikrostruktur des Muskels und ihre Beziehung zum Wasserbindungsvermögen des Fleisches. *Fleischwirtschaft*, 15, 298-309.
- Harrington, G., Kempster, A.J. (1989). Improving lamb carcass composition to meet modern consumer demand. In: *Reproduction, growth and nutrition in sheep*. Eds. Dyrmondsson O.R, Thorgeirsson S. Agricultural Research Institute Publisher. pp. 79-90.
- Helander, I.M., Latva-Kala, K., Lounatmaa, K. (1998). Permeabilizing action of polyethyleneimine on *Salmonella typhimurium* involves disruption of the outer membrane and interactions with lipopolysaccharide. *Microbiology*, 144, 385-390.
- Hernández, P., López, A., Marco, M., Blasco, A. (2006). Actividad de los enzimas antioxidantes en la carne de conejo. En: *Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos*. Ed. Universidad Cardenal Herrera-CEU. España. pp. 4-6.

- Higgins, F.M., Kerry, J.P., Buckley, D.J., Morrissey, P.A. (1998). Dietary supplementation versus direct post mortem addition of alpha-tocopherol on lipid and colour stability in cooked turkey breast patties. *Food Res. Int.*, 31(3), 205-209.
- Hino, T., Andoh, N., Ohgi, H. (1993). Effects of beta-carotene and alpha-tocopherol on rumen bacteria in the utilization of longchain fatty acids and cellulose. *J. Dairy Sci.*, 76, 600-605.
- Hogue, D., Proctor, J., Warner, R., Loosli, J. (1962). Relation of selenium, vitamin E and an unidentified factor to muscular dystrophy (stiff-lamb or white-muscle disease) in the lamb. *J. Anim. Sci.*, 21(1), 25-29.
- Hollman, P.C., Katan, M.B. (1997). Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed. Pharmacother.*, 51(8), 305-310.
- Hong, S.J., Kim, S.I., Kwon, S.M., Lee, J.R., Chung, B.C. (2002). Comparative study of concentration of isoflavones and lignans in plasma and prostatic tissues of normal control and benign prostatic hyperplasia. *Yonsei Med. J.*, 43, 236-241.
- Hood, D.E., Riordan, E.B. (1973). Discoloration en pre-packaged beefs: Measurements by reflectance spectrophotometry and shopper discrimination. *J. Food Technol.*, 8, 333-343.
- Hopkins, D.L. (1981). Effects of variation in protein digestibility. In: Protein quality in humans: assessment and in vitro estimation. Eds. C.E. Bodwell, J.S. Adkins y D.T. Hopkins. Avi. Publisher. Westport, Connecticut. USA. pp. 169-193.
- Hopkins, D.L. (1996). Assessment of lamb meat colours. *Meat Focus International*, November, 400-401.
- Hopkins, D.L., Clayton, E.H., Lamb, T.A., van de Ven, R.J., Refshauge, G., Kerr, M.J., Bailes, K., Lewandowski, P., Ponnampalam, E.N. (2014). The impact of supplementing lambs with algae on growth, meat traits and oxidative status. *Meat Sci.*, 98, 135-141.
- Hopkins, D.L., Ferrier, G.R., Channson, H.A., MacDonald, B.A. (1995). Assessment of lamb meat quality in Sydney and Melbourne. *Proc. N.Z.S Anim. Prod.*, 55, 114-116.
- Horcada, A., Beriain, M.J., Purroy, A., Lizaso, G., Chasco, J. (1998). Effect of sex on meat quality of Spanish lamb breeds (Lacha and Rasa Aragonesa). *Anim. Sci.*, 67, 541-547.

- Huang, H.Y., Appel, L.J. (2003). Supplementation of diets with alphatocopherol reduces serum concentrations of gamma- and delta-tocopherol in humans. *J. Nutr.*, 133(10), 3137-3140.
- Huff-Lonergan, E., Lonergan, S.M. (2005). Mechanism of water holding capacity of meat: the role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Sci.*, 71, 194-204.
- Huff-Lonergan, E., Zhang, W.G., Lonergan, S.M. (2010). Biochemistry of postmortem muscle - lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Sci.*, 86, 184-195.
- Hulot, F., Ouhayoun, J. (1999). Muscular pH and related traits in rabbits: a review. *World Rabbit Sci.*, 7.5-36.
- Ignat I., Volf I., Popa V. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.*, 126, 1821-1835.
- Insausti, K., Beriain, M.J., Lizaso, G., Carr, T.R., Purroy, A. (2008). Multivariate study of different beef quality traits from local Spanish cattle breeds. *Animal*, 2(3), 447-458.
- Iqbal, J., Hussain, M.M. (2009). Intestinal lipid absorption. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 296(6), E1183-E1194.
- Jacob, R.H., D'Antuono, M.F., Smith, G.M., Pethick, D.W., Warner, R.D. (2007). Effect of lamb age and electrical stimulation on the colour stability of fresh lamb meat. *Aust. J. Agric. Res.*, 58, 374-382.
- Jadhav, S.J., Nimbalkar, S.S., Kulkani, A.D., Madhavi, D.L. (1995). Lipid oxidation in biological and food systems. In: *Food antioxidants, technological, toxicological and health perspectives*. Eds. Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., Salunke, D.K. CRC Press Publisher. New York, USA. pp. 5-63.
- Jafari, S., Meng, G.Y., Rajion, M.A., Jahromi, M.F., Ebrahimi, M. (2016). Manipulation of rumen microbial fermentation by polyphenol rich solvent fractions from papaya leaf to reduce green-house gas methane and biohydrogenation of C18 PUFA. *J. Agric. Food Chem.*, 64, 4522-4530.

- Jang, A., Liu, X.D., Shin, M.H., Lee, B.D., Lee, S.K., Lee, J.H., Jo, C. (2008). Antioxidative potential of raw breast meat from broiler chicks fed a dietary medicinal herb extract mix. *Poultry Sci.*, 87, 2382-2389.
- Jenkins, T.C. (1993). Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.*, 76, 3851-3863.
- Jensen, C., Lauridsen, C., Bertelsen, G. (1998). Dietary vitamin E: Quality and storage stability of pork and poultry. *Trends Food Sci. Technol.*, 9(2), 62-72.
- Jeremiah, L.E. (2001). Packaging alternatives to deliver fresh meats using short- or long-term distribution. *Food Res. Int.*, 34, 749-772.
- Jerónimo, E., Alfaia, C.M.M., Alves, S.P., Dentinho, M.T.P., Prates, J. a M., Vasta, V., Santos-Silva, J., Bessa, R.J. (2012). Effect of dietary grape seed extract and *Cistus ladanifer* L. in combination with vegetable oil supplementation on lamb meat quality. *Meat Sci.*, 92, 841- 847.
- Jongberg, S., Skov, S.H., Tørngren, M.A., Skibsted, L.H., Lund, M.N. (2011). Effect of white grape extract and modified atmosphere packaging on lipid and protein oxidation in chill stored beef patties. *Food Chem.*, 128, 276-283.
- Juárez, M., Dugan, M.E.R., Aldai, N., Basarab, J.A., Baron, V.S., McAllister, T.A., Aalhus, J.L., (2012). Beef quality attributes as affected by increasing the intramuscular levels of vitamin E and omega-3 fatty acids. *Meat Sci.*, 90, 764-769.
- Judge, M., Aberle, E., Forrest, J., Hedrich, H., Merkel, R. (1989). Principles of meat science. Dubuke (Iowa): Kendall & Hunt Publishing. Cap 6, 125-133.
- Kang, J.O., Kim, S.H., Kim, I.H., Kim, C.J., Joo, S.T., Sakata, R. (1998) Study on the indicators of beef quality in Korea. In: 44th International Congress of Meat Science and Technology, pp. 888-889.
- Kanner, J. (1994). Oxidative Processes in Meat and Meat products: Quality implications. *Meat Sci.*, 36, 169-189.

- Karami, M., Alimon, A.R., Sazili, A.Q., Goh, Y.M., Ivan, M. (2011). Effects of dietary antioxidants on the quality, fatty acid profile, and lipid oxidation of *Longissimus* muscle in Kacang goat with aging time. *Meat Sci.*, 88, 102-108.
- 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 Sci.*, 90, 908-916.
- Kerem, Z., Chertrit, D., Shoseyov, O., Regev-Shoshani, G., (2006). Protection of lipids from oxidation by epicatechin, trans-resveratrol, and gallic and caffeic acids in intestinal model systems. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 10288-10293.
- Kim, J.Y., Park, H.D., Park, E.J., Chon, J.W., Park, Y.K. (2009). Growth-inhibitory and proapoptotic effects of alpha-linoleic acid on estrogen-positive breast cancer cells: second look at n-3 fatty acid. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1171, 190-195.
- Kitessa, S.M., Gulati, S.K., Ashes, J.R., Fleck, E., Scott, T.W., Nichols, P.D. (2001). Utilisation of fish oil in ruminants II. Transfer of fish oil fatty acids into goats' milk. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 89, 201-208.
- Kitts, D.D. (1997) An evaluation of the multiple effects of the antioxidant vitamins. *Trends Food Sci. Technol.*, 8, 198-203.
- Kouba, M., Mourot, J. (2011). A review of nutritional effects on fat composition of animal products with special emphasis on n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochimie*, 93, 13-17.
- Krammer, A. (1994). Use of colour measurements in quality control of food. *Food Technol.*, 48, 63-71
- Kremer, J.M., Lawrence, D.A., Jubiz, W., DiGiacomo, R., Rynes, R., Barthlomew, L.E., Sherman, M. (1990). Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis: Clinical and immunologic effects. *Arthritis Rheum.*, 33, 810-820.
- Krzywicki, K. (1979). Assessment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. *Meat. Sci.*, 3, 1-10.

- Ladikos, D., Lougovois, V. (1990). Lipid oxidation in muscle foods: a review. *Food Chem.*, 35, 295-314.
- Lanari, M.C., Schaefer, D.M., Scheller K.K. (1995). Dietary vitamin E supplementation and discoloration of pork bone and muscle following modified atmosphere packaging. *Meat Sci.*, 41, 237-250.
- Lapornik, B., Prosek, M., Wondra. A.G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *J. Food Eng.*, 71, 214-222.
- Larrosa, M., Llorach, R., Espin, J.C., Tomas-Barberan, F.A. (2002). Increase of antioxidant activity of tomato juice upon functionalisation with vegetable byproduct extracts. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 35(6), 532-542.
- Larsen, R., Eilertsen, K.E., Elvevoll, E.O. (2011). Health benefits of marine foods and ingredients. *Biotechnol. Adv.*, 29, 508-518.
- Lauridsen, C. (1998). Antioxidative status in pigs and chickens following dietary alterations, with emphasis on skeletal muscles. Tesis doctoral. The Royal Veterinary and Agricultural University. Copenhagen, Dinamarca.
- Lauzurica, S., De la Fuente, J., Díaz, M.T., Álvarez, I., Pérez, C., Cañeque, V. (2005). Effect of dietary supplementation of vitamin E on characteristics of lamb meat packed under modified atmosphere. *Meat Sci.*, 70, 639-646.
- Lawrie, R.A. (1998). The eating quality of meat. In: *Lawrie's Meat Science*. Woodhead Publisher, Cambridge. pp. 169-207.
- Ledward, D.A. (1985). Post-slaughter influences on the formation of metmyoglobin in beef muscles. *Meat Sci.* 15, 149-171.
- Lee, M.R.F., Tweed, J.K.S., Kim, E.J., Scollan, N.D. (2012). Beef, chicken and lamb fatty acid analysis - A simplified direct bimethylation procedure using freeze-dried material. *Meat Sci.*, 92, 863-866.
- Lee, S.D., Kim, H.Y., Song, Y.M., Jung, H.J., Ji, S.Y., Jang, H.D., Ryu, J.W., Park, J.C., Moon, H.K., Kim, I.C. (2009). The effect of *Eucommia ulmoides* leaf supplementation on the

growth performance, blood and meat quality parameters in growing and finishing pigs. *Anim. Sci. J.*, 80, 41–45.

Li, Z., Henning, S.M., Zhang, Y., Zerlin, A., Li, L., Gao, K., Lee, R., Karp, H., Thames, G., Bowerman, S., Heber, D. (2010). Antioxidant- rich spice added to hamburger meat during cooking results in reduced meat, plasma, and urine malondialdehyde concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.*, 91, 1180-1184.

Liu, G., Xiong, Y.L.L. (2000). Oxidatively induced chemical changes and interactions of mixed myosin, beta-lactoglobulin and soy 7S globulin. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1601-1607.

Liu, Q., Lanari, M.C., Schaefer, D.M. (1995). A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality. *J. Anim. Sci.*, 73, 3131-3140.

Liu, Q., Scheller, K.K., Arp, S.C., Schaefer, D.M., Frigg, M. (1996). Color coordinates for assessment of dietary vitamin E effects on color stability. *J. Anim. Sci.*, 74, 106-116.

Locker, R.H., Hagyard, C.J. (1963). A cold shortening effect in beef muscles. *J. Sci. Food Agric.* 14, 787-790.

López-Andrés, P., Luciano, G., Vasta, V., Gibson, T., Biondi, A., Priolo, A., Mueller-Harvey, I. (2013). Dietary quebracho tannins are not absorbed, but increase the antioxidant capacity of liver and plasma in sheep. *Br. J. Nutr.*, 110, 632-639.

López-Bote, C.J., Daza, A., Soares, M., Berges, E. (2001). Dose-response effect of dietary vitamin E concentration on meat quality characteristics in light-weight lambs. *Anim. Sci.*, 73, 451-458.

Lopez-Bote, C.J., Isabel, B., Ruiz, J., Daza, A. (2003). Effect of vitamin E supplementation and partial substitution of poly- with mono-unsaturated fatty acids in pig diets on muscle, and microsome extract alpha-tocopherol concentration and lipid oxidation. *Arch. Anim. Nutr.*, 57(1), 11-25.

López-Miranda, J., Pérez-Jiménez, F., Ros, E., De Caterina, R., Badimón, L., Covas, M.I., Escrich, E., Ordovás, J.M., Soriguer, F., Abiá, R., de la Lastra, C.A., Battino, M., Corella, D., Chamorro-Quirós, J., Delgado-Lista, J., Giugliano, D., Esposito, K., Estruch, R., Fernandez-Real, J.M., Gaforio, J.J., La Vecchia, C., Lairon, D., López-Segura, F., Mata, P.,

Menéndez, J.A., Muriana, F.J., Osada, J., Panagiotakos, D.B., Paniagua, J.A., Pérez-Martínez, P., Perona, J., Peinado, M.A., Pineda-Priego, M., Poulsen, H.E., Quiles, J.L., Ramírez-Tortosa, M.C., Ruano, J., Serra-Majem, L., Solá, R., Solanas, M., Solfrizzi, V., de la Torre-Fornell, R., Trichopoulou, A., Uceda, M., Villalba-Montoro, J.M., Villar-Ortiz, J.R., Visioli, F., Yiannakouris, N. (2010). Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaen and Cordoba (Spain) 2008. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 20, 284-294.

Luciano, G., Biondi, L., Pagano, R. I., Scerra, M., Vasta, V., López-Andrés, P., Valenti, B., Lanza, M., Priolo, A., Avondo, M. (2012). The restriction of grazing duration does not compromise lamb meat colour and oxidative stability. *Meat Sci.*, 92, 30-35.

Luciano, G., Monahan, F.J., Vasta, V., Biondi, L., Lanza, M., Priolo, A. (2009). Dietary tannins improve lamb meat colour stability. *Meat Sci.*, 81, 120-125.

Luciano, G., Pauselli, M., Servili, M., Mourvaki, E., Serra, A., Monahan, F.J., Lanza, M., A. Priolo, A., Zinnai, A., Mele, M. (2013). Dietary olive cake reduces the oxidation of lipids, including cholesterol, in lamb meat enriched in polyunsaturated fatty acids. *Meat Sci.*, 93, 703-714.

Luciano, G., Vasta, V., Monahan, F. J., López-Andrés, P., Biondi, L., Priolo, A. (2011). Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed tannin-containing diet. *Food Chem.*, 124, 1036-1042.

Lund, M.N., Heinonen, M., Baron, C. P., Estévez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: a review. *Mol. Nutr. Food Res.*, 55, 83-95.

Macit, M., Aksakal, V., Emsen, E., Esenbuga, N., Irfan Aksu, M. (2003). Effects of vitamin E supplementation on fattening performance, noncarcass components and retail cut percentages, and meat quality traits of Awassi lambs. *Meat Sci.*, 64, 1-6.

Madron, M.S., Peterson, D.G., Dwyer, D.A., Corl B.A., Baumgard L.H., Beermann, D.H., Bauman, D.E. (2002). Effect of estruded full-fat soybeans on conjugated linoleic acid content of intramuscular, intermuscular, and subcutaneous fat in beef steers. *J. Anim. Sci.*, 80, 1135-1143.

MAGRAMA. (2014). Caracterización del sector ovino y caprino en España año 2014. Disponible en:

[http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/publicaciones/caracterizaciondelsectorovinoycaprin oenespana2014\\_def\\_tcm7-411855.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/publicaciones/caracterizaciondelsectorovinoycaprin oenespana2014_def_tcm7-411855.pdf). Fecha de consulta: 03 de noviembre 2016.

MAGRAMA. (2015). Informe del Consumo de Alimentación en España 2014. Disponible en: [http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informeconsumoalimentacion2014\\_tcm7-382148.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informeconsumoalimentacion2014_tcm7-382148.pdf). Fecha de consulta: 25 octubre 2016.

MAGRAMA. (2016). Informe del Consumo de Alimentación en España 2015. Disponible en: [http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informeconsumoalimentacion2015\\_tcm7-422694.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informeconsumoalimentacion2015_tcm7-422694.pdf). Fecha de consulta 25 octubre 2016.

Maiorano, G., Angwech, H., Di Memmo, D., Wilkanowska, A., Mucci, R., Abiuso, C., Tavaniello, S. (2016). Effects of intramuscular vitamin E multiple injection on quality, oxidative stability and consumer acceptability of meat from *Laticauda* lambs fed under natural rearing conditions. *Small Rumin. Res.*, 139, 52-59.

Maiorano, G., Cavone, C., McCormick, R.J., Ciarlariello, A., Gambacorta, M., Manchisi, A. (2007). The effect of dietary energy and vitamin E administration on performance and intramuscular collagen properties of lambs. *Meat Sci.*, 76, 182-188.

Makkar, H.P.S., Becker, K., Abel, H., Szegletti, C. (1995). Degradation of condensed tannins by rumen microbes exposed to quebracho tannins (QT) in rumen simulation technique (RUSITEC) and effects of QT on fermentative processes in the RUSITEC. *J. Sci. Food Agric.*, 69, 495-500.

Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans, I. Review of 97 bioavailability studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, 230-242.

Mancini, R.A., Hunt, M.C. (2005). Current research in meat color. *Meat Sci.*, 71, 100-121.

- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Mantecón, A.R., Castro, T. (2011). Feeding vegetable oils to lactating ewes modifies the fatty acid profile of suckling lambs. *Animal*, 5, 1659-1667.
- Maraschiello, C., Sárraga, C., García Regueiro, J.A. (1999). Glutathione peroxidase activity, TBARS, and  $\alpha$ -tocopherol in meat from chickens fed different diets. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 867-872.
- Marklund, S., Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a conventional assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 47, 469-474.
- Marsh, B.B., Thompson, J.F. (1958). Rigor mortis and thaw rigor in lamb. *J. Sci. Food Agric.*, 9, 417-424.
- Martín, T.G., Alenda, R., Cabrero, M. (1992). Carcass characteristics of Rubia Gallega and Asturiana cattle at 10 to 18 months of age. *J. Anim. Sci.*, 109, 385-393.
- Martinaud, A., Mercier, Y., Marinova, P., Tassy, C., Gatellier, P., Renerre, M. (1997). Comparison of oxidative processes on myofibrillar proteins from beef during maturation and by different model oxidation systems. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2481-2487.
- Martínez-Cerezo, S., Sañudo, C., Panea, B., Medel, I., Delfa, R., Sierra, I., Beltrán, J.A., Cepero, R., Olleta, J.L. (2005). Breed, slaughter weight and ageing time effects on physico-chemical characteristics of lamb meat. *Meat Sci.*, 69, 325-333.
- Martínez-Valverde, I., Periago, M.J., Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos en la dieta. *Arch. Latinoam. Nutr.*, 50, 5-18.
- 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 Sci.*, 84, 1-13.
- McCormick, R.J. (2009). Collagen. In: *Applied Muscle Biology and Meat Science*. Eds. Du, M., McCormick, R.J., CRC Press Publisher. pp. 129-148.

- Medina, I., Lois, S., Alcantara, D., Lucas, R., Morales, J.C. (2009). Effect of lipophilization of hydroxytyrosol on its antioxidant activity in fish oils and fish oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 9773-9779.
- Mei, L., Crum, A. D., Decker, E. A. (1994). Development of lipid and protein oxidation and incubation of antioxidant enzymes in cooked pork and beef. *J. Food Lipids*, 1, 273-283.
- Melton, S.T. (1983). Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technol.*, 37(7), 105-116.
- Mercier, Y., Gatellier, P., Renerre, M. (2004). Lipid and protein oxidation in vitro, and antioxidant potential in meat from Charolais cows finished on pasture or mixed diet. *Meat Sci.*, 66, 467-473.
- Mercier, Y., Gatellier, Ph., Renerre, M. (1995). Relationships between lipid and protein oxidation in different beef muscles. In: *Proceedings 41st international congress of meat science and technology*. San Antonio, USA. pp. 562-564.
- Métodos de análisis de productos cárnicos. (1979). Anexo II. B.O.E 29/8/1979, 2595-2603.
- Micha, R., Mozaffarian, D. (2010). Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. *Lipids*, 45, 893-905.
- Miller, J.K., Brzezinska-Slebodzinska, E., Madsen, F.C. (1993). Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *J. Dairy. Sci.*, 76, 2812-2823.
- Mirabella, N., Castellani, V., Sala, S. (2014). Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *J. Clean. Prod.*, 65, 28-41.
- Mitsumoto, M., Faustman, C., Cassens, R., Arnold, R., Schaefer, D., Scheller, K. (1991). Vitamins E and C improve pigment and lipid stability in ground beef. *J. Food Sci.*, 56, 194-197.
- Moloney, A.P., Kennedy, C., Noci, F., Monahan, F.J., Kerry, J.P. (2012). Lipid and colour stability of *M. longissimus* muscle from lambs fed camelina or linseed as oil or seeds. *Meat Sci.*, 92, 1-7.

- Monahan, F.J., Buckley, D.J., Gray, J.I., Morrissey, P.A., Asghar, A., Hanrahan, T.J., Lynch, P.B. (1990). Effect of dietary vitamin E on the stability of raw and cooked pork. *Meat Sci.*, 27, 99-108.
- Monahan, F.J., Buckley, D.J., Morrissey, P.S., Lynch, P.B. Gray, J.I. (1992). Influence of dietary fat  $\alpha$ -tocopherol supplementation on lipid oxidation in pork. *Meat Sci.*, 31, 229-241
- Monahan, F.J., Crackel, R.L., Gray, J.I., Buckeley, D.J., Morrissey, P.A. (1993). Catalysis of lipid oxidation in muscle model systems by haem and inorganic iron. *Meat Sci.*, 34, 95-106.
- Morán, L. (2013). Efecto del ácido carnósico añadido a la dieta de corderos sobre el bienestar animal y la calidad de la carne. Tesis doctoral. Universidad de León. León, España.
- Morán, L., Javier Giráldez, F., Panseri, S., Aldai, N., Jordán, M., Chiesa, L., Andrés, S. (2013). Effect of dietary carnosic acid on the fatty acid profile and flavour stability of meat from fattening lambs. *Food Chem.*, 138, 2407-2414.
- Moreira, M., Ponce, A., Del Valle, C., Roura, S. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Sci. Technol.*, 38(5), 565-570.
- Moreiras O., Carbajal A., Cabrera L., Cuadrado C. (2001). Tabla de composición de los alimentos. Ed. Piramide. Madrid. pp. 144.
- Moreno, B. (2006). Higiene e inspección de carne, vol. I. Ed. Moreno. B. Ed. Díaz de Santos. España. pp. 211-212.
- Morrissey, P.A., Sheehy, P.J.A., Galvin, K., Kerry, J.P., Buckley, D.J. (1998). Lipid stability in meat and meat products. *Meat Sci.*, 49, S73-S86.
- Mottram, D.S., Edwards, R.A., Macfie, H.J.H. (1982). A comparison of the flavour volatiles from cooked beef. *J. Sci. Food Agric.*, 33, 934-944.
- Moyo, B., Oyedemi, S., Masika, P.J., Muchenje, V. (2012). Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goat supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake. *Meat Sci.*, 91, 441-447.
- Muño, I., Apeleo, E., De La Fuente, J., Pérez-Santaescolástica, C., Rivas-Cañedo, A., Pérez, C., Díaz, M.T., Cañeque, V., Lauzurica, S. (2014). Effect of dietary supplementation with red

wine extract or vitamin E, in combination with linseed and fish oil, on lamb meat quality. *Meat Sci.*, 98, 116-123.

Muñoz, I., Díaz, M.T., Apeleo, E., Pérez-Santaescolástica, C., Rivas-Cañedo, A., Pérez, C., Cañeque, V., Lauzurica, S., de la Fuente, J. (2017). Valorisation of an extract from olive oil waste as a natural antioxidant for reducing meat waste resulting from oxidative processes. *J. Clean. Prod.*, 140 (2), 924–932.

Muller, D.P., Manning, J.A., Mathias, P.M., Harries, J.T. (1976). Studies on the intestinal hydrolysis of tocopheryl esters. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 46, 207-210.

Murphy, A., Kerry, J.P., Buckley, D.J., Gray, I. (1998). The antioxidative properties of rosemary oleoresin and inhibition of oof-flavours in precooked roast beef slices. *J. Sci. Food Agric.*, 77, 235-243.

Murray, A.C. (1989). Factors affecting beef color at time of grading. *Can. J. Anim. Sci.*, 69, 347-355.

Mustacich, D.J., Bruno, R.S., Traber, M.G. (2007). Vitamin E. *Vitam. Horm.*, 76, 1-21.

Naczki, M., Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 41, 1523-1542.

Napolitano, A., De Lucia, M., Panzella, L., d'Ischia, M. (2010). The chemistry of tyrosol and hydroxytyrosol: Implications for oxidative stress. olives and olive oil in health and disease prevention. Elsevier, Chapter 134, seccion III Tyrosol and Hydroxytyrosol, 1226-1232.

Nassu, R.T., Dugan, M.E.R., Juarez, M., Basarab, J.A., Baron, V.S., Aalhus, J.L. (2011). Effect of alpha-tocopherol tissue levels on beef quality. *Animal*, 5, 2010-2018.

Nassu, R.T., Uttaro, B., Aalhus, J.L., Zawadski, S., Juárez, M., Dugan, M.E.R. (2012). Type of packaging affects the colour stability of vitamin E enriched beef. *Food Chem.*, 135, 1868-1872.

Natsume, M., Osakabe, N., Oyama, M., Sasaki, M., Baba, S., Nakamura, Y., Osawa, T., Terao, J. (2003). Structures of (-)-epicatechin glucuronide identified from plasma and urine

after oral ingestion of (-)-epicatechin: differences between human and rat. *Free Radic. Biol. Med.*, 34, 840-849.

Németh, K., Plumb, G.W., Berrin, J.G., Juge, N., Jacob, R., Naim, H.Y., Williamson, G., Swallow, D.M., Kroon, P.A. (2003). Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *Eur. J. Nutr.*, 42, 29-42.

Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., Garrido, M.D. (2010a). Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis L.*): influence on lamb meat quality. *Meat Sci.*, 84, 23-29.

Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., Garrido, M.D. (2010b). Effect on lamb meat quality of including thyme (*Thymus zygis ssp. gracilis*) leaves in ewes' diet. *Meat Sci.*, 85, 82-88.

Nieto, G., Huvaere, K., Skibsted, L.H. (2011). Antioxidant activity of rosemary and thyme by-products and synergism with added antioxidant in a liposome system. *Eur. Food Res. Technol.*, 233, 11-18.

Nieto, G., Ros, G. (2012). Modification of Fatty Acid Composition in Meat Through Diet: Effect on Lipid Peroxidation and Relationship to Nutritional Quality - A Review. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*. "Lipid Peroxidation". Ed. Angel Catala. pp. 239-258.

Nijveldt, R.J., van Nood, E., van Hoorn, D.E., Boelens, P.G., van Norren, K., van Leeuwen, P.A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.*, 74, 418-425.

Nute, G.R., Richardson, R.I., Wood, J.D., Hughes, S.I., Wilkinson, R.G., Cooper, S.L., Sinclair, L.A. (2007). Effect of dietary oil source on the flavour and the colour and lipid stability of lamb meat. *Meat Sci.*, 77, 547-555.

O'Grady, M.N., Monahan, F.J., Bailey, J., Allen, P., Bickley, D.J., Keane, M.G. (1998). Colour stabilising effect of muscle vitamin E in minced beef stored in High oxygen packs. *Meat Sci.*, 50, 73-80.

- O'Grady, M.N., Maher, M., Troy, D.J., Moloney, A.P., Kerry, J.P. (2006). An assessment of dietary supplementation with tea catechins and rosemary extract on the quality of fresh beef. *Meat Sci.*, 73, 132-143.
- Obied, H.K., Allen, M.S., Bedgood, D.R., Prenzler, P.D., Robards, K., Stockmann, R. (2005). Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 823-837.
- Offer, G., Knight, P. (1988). The structural basis of water-holding in meat. In: *Developments in Meat Science*. Ed. Lawrie R. Chapman and Hall Publisher. London. pp. 63-243.
- Oliver, C.N., Ahn, B.W., Moerman, E.J., Goldstein, S., Stadtman, E. R. (1987). Aged-related changes in oxidized proteins. *J. Biol. Chem.*, 262, 5488-5491.
- Ordoñez, J.A., Cambero, M.I., Fernández, L., García, M.L., García de Fernando, G., De la Hoz, L., Selgas, M.D. (1998). Lípidos. En: *Tecnología de los Alimentos*, vol. I, capítulo III, Ed: Ordoñez, J.A. Ed. Síntesis, S.A. Madrid, España. pp. 38-59.
- Ortuño, J., Serrano, R., Bañón, S. (2015). Antioxidant and antimicrobial effects of dietary supplementation with Rosemary diterpenes (carnosic acid and carnosol) vs vitamin E on lamb meat packed under protective atmosphere. *Meat Sci.*, 110, 62-69.
- Osawa, T. (1994). Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems. In: *Postharvest Biochemistry of Plant Food-Materials in the Tropics*. Eds. Uritani, I., Garcia, V.V., Mendoza, E.M. Japan Scientific Societies Press Publisher. pp. 241-251.
- Owen, R.W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W.E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H. (2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chem. Toxicol.*, 38, 647-659.
- Palombo, R., Wijngaards, G. (1990). Characterization of changes in psychometric colour attributes of comminuted porcine lean meat during processing. *Meat Sci.*, 28, 61-76.
- Paniang-Vait, P., King, A.J., Jones, A.D., German, B.G. (1995). Cholesterol oxides in foods of animal origin. *J. Food Sci.*, 60, 1159-1174.

- Panizzi L, Searpati ML, Oriente G. (1960). The constitution of oleuropein, a bitter glucoside of the olive with hypotensive action. II, *Gazz. Chim. Ital.*, 90, 1449-1485.
- Parkar, S.G., Stevenson, D.E., Skinner, M.A. (2008). The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora and human gut health. *Int. J. Food Microbiol.*, 124, 295-298.
- Parr, A.J., Bolwell, G.P. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 985-1012.
- Pazos, M., Alonso, A., Sanchez, I., Medina, I. (2008). Hydroxytyrosol prevents oxidative deterioration in foodstuffs rich in fish lipids. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 3334-3340.
- Pearson, A.M., Love, J.D., Shorland, F.D. (1977). Warmed-over-flavor in meat, poultry and fish. *Adv. Food Res.*, 23, 1-74.
- Pekmezci, D. (2011). Vitamin E and immunity. *Vitam. Horm.*, 86, 179-215.
- Peng, Y., Yuan, J., Liu, F., Ye, J. (2005). Determination of active components in rosemary by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 39(3), 431-437.
- Pérez, B. (2010). Suplementación de raciones para cebo intensivo de terneros con aceites vegetales: rendimientos productivos, calidad de la canal, de la grasa y de la carne. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.
- Petron, M.J., Raes, K., Claeys, E., Lourenço, M., Fremaut, D., De Smet, S. (2007). Effect of grazing pastures of different botanical composition on antioxidant enzyme activities and oxidative stability of lamb meat. *Meat Sci.*, 75, 737-745.
- Pigeolot, E., Corbisier, P., Houbion, A., Lambert, D., Michiels, C., Raes, M. (1990). Glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase inactivation by peroxide and oxygen derived radicals. *Mech. Ageing Dev.*, 51, 283-297.
- Pinelli-Saavedra, A., de la Barca, A.M.C., Hernandez, J., Valenzuela, R., Scaife, J.R. (2008). Effect of supplementing sows' feed with alpha-tocopherol acetate and vitamin C on transfer of

alpha-tocopherol to piglet tissues, colostrum, and milk: aspects of immune status of piglets. *Res. Vet. Sci.*, 85(1), 92-100.

Ponnampalam, E.N., Butler, K.L., McDonagh, M.B., Jacobs, J.L., Hopkins, D.L. (2012). Relationship between muscle antioxidant status, forms of iron, polyunsaturated fatty acids and functionality (retail colour) of meat in lambs. *Meat Sci.*, 90, 297-303.

Ponnampalam, E.N., Sinclair, A.J., Egan, A.R., Blakeley, S.J., Li, D., Leury, B.J. (2001). Effect of dietary modification of muscle long-chain n-3 fatty acid on plasma insulin and lipid metabolites, carcass traits, and fat deposition in lamb. *J. Anim. Sci.*, 79, 895-903

Popa V.I., Agache, C., Beleca, C., Popa, M. (2002). Polyphenols from spruce bark as plant growth regulator. *Crop Research*, 24, 398-406.

Popa, V.I., Dumitru, M., Volf, I., Anghel, N. (2008). Lignin and polyphenols as allelochemicals. *Ind. Crops Prod.*, 27, 144-149.

Porter, L.J. (1989). Tannins, in Plant phenolics. In: *Methods in plant biochemistry*, vol. I. Ed. Harborne J.B. Academic Press Publisher, London. pp. 389-419.

Pradhan, A.A., Rhee, K.S., Hernández, P. (2000). Stability of catalase and its potential role in lipid oxidation in meat. *Meat Sci.*, 54, 385-390.

Price, J.F., Schweigert, B.S. (1994). *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. Ed. Price, J.F., Schweigert, B.S. Ed. Acribia, Zaragoza. pp. 581.

Quiñones, M., Miguel, M., Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr. Hosp.*, 27(1), 76-89.

Raederstorff, D. (2010). Antioxidant activity of olive polyphenols in humans: a review. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 79, 152-165.

Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D. (2004). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 113, 199-221.

Rawal, A.K., Muddeshwar, M.G., Biswas, S.K. (2004). *Rubia cordifolia*, *Fagonia cretica* Linn and *Tinospora cordifolia* exert neuroprotection by modulating the antioxidant system in

rat hippocampal slices subjected to oxygen glucose deprivation. *Complement. Altern. Med.*, 4(1), 11.

Real Decreto, 37/2014 del 24 de enero, por el que se regulan aspectos relativos a la protección de los animales en el momento de la matanza. B.O.E. 28/2014. 01 de febrero 2014, pp. 7178-7183.

Reboul, E., Klein, A., Bietrix, F., Gleize, B., Malezet-Desmoulins, C., Schneider, M., Margotat, A., Lagrost, L., Collet, X., Borel, P. (2006). Scavenger receptor class B type I (SR-BI) is involved in vitamin E transport across the enterocyte. *J. Biol. Chem.*, 281, 4739-4745.

Reglamento (CE) nº 1099/2009, del Consejo, de 24 de septiembre de 2009 relativo a la protección de los animales en el momento de la matanza. El reglamento es de aplicación desde el 1 de enero de 2013. DOCE nL303, de 18/11/2009. 1-30.

Reglamento (CEE) 1278/94, del Consejo, de 30 de mayo de 1994 que modifica el Reglamento (CEE) nº 338/91, por el que se determina la calidad tipo comunitaria de las canales de ovino frescas o refrigeradas, y el Reglamento (CEE) nº 2137/92, relativo al modelo comunitario de clasificación de canales de ovino, por el que se determina la calidad tipo comunitaria de las canales ovino frescas o refrigeradas. DOCE nL140, de 03/06/94. Anexo III de la CEE.

Renerre, M. (1988). Quelles recommandations pour mesurer la xoleur de la viande au laboratoire. In: *Industries Alimentaires et Agricoles*. pp. 530.

Renerre, M., Poncet, K., Mercier, Y., Gatellier, P., Métro, B. (1999). Influence of dietary fat and vitamin E antioxidant status of muscles of turkey. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 237-244.

Resolución de 19 de diciembre de 2011, por la que se aprueba la Guía del etiquetado facultativo de carne de cordero y cabrito. B.O.E. 314 (30/12/2011), pp. 146362- 146367.

Rhee, K.S. (1988). Enzymic and nonenzymic catalysis of lipid peroxidation in muscle foods. *Food Technol.*, 42(6), 127-132.

Rhee, K.S., Anderson, L.M., Sams, A.R. (1996). Lipid oxidation potential of beef, chicken and pork. *J. Food Sci.*, 61, 8-12.

- Rhee, K.S., Vanderzant, C., Keeton, J.T., Ehlers, J.G., Leu, R. (1985). Microbiological and shelf-life properties of ground beef containing glandless cottonseed flour. *J. Food Sci.*, 50, 1388-1391.
- Rice-Evans, C., Burdon, R. (1993). Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog. Lipid Res.*, 32, 71-110.
- Rietjens, I.M., Boersma, M.G., de Haan, L., Spenkelink, B., Awad, H.M., Cnubben, N.H., van Zandena, J.J., van der Woude, H., Alink, G.M., Koemana, J.H. (2002). The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 11(3), 321- 333.
- Rigotti, A. (2007). Absorption, transport, and tissue delivery of vitamin E. *Mol. Aspects Med.*, 28(5-6), 423-436.
- Ripoll, G., González-Calvo, L., Molino, F., Calvo, J.H., Joy, M. (2013). Effects of finishing period length with vitamin E supplementation and alfalfa grazing on carcass color and the evolution of meat color and the lipid oxidation of light lambs. *Meat Sci.*, 93, 906-913.
- Ripoll, G., Joy, M., Muñoz, F. (2011). Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat Sci.*, 87, 88-93.
- Ripoll, G., Joy, M., Muñoz, F., Albertí, P. (2008). Meat and fat colour as a tool to trace grass-feeding systems in light lamb production. *Meat Sci.*, 80, 239-248.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tucke, G., Swatsitang, P., Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.*, 66, 401-436.
- Robbins, R.J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 2866-2887.
- Ruiz de Huidobro, F., Cañeque, V. (1993). Producción de carne en corderos de raza Manchega. I. Estudios de los rendimientos en canal, de las pérdidas en el matadero y de la importancia de los despojos. *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.*, 8, 111-125.
- Ruiz de Huidobro, F., Miguel, E., Cañeque, V., Velasco, S. 2005. Conformación, engrasamiento y sistemas de clasificación de la canal ovina. En: Estandarización de las

metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Eds Cañequé V. y Sañudo C. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ministerio de Educación y Ciencia. Madrid, España. pp. 143-169.

Salvatori, G., Pantaleo, L., Di Cesare, C., Maiorano, G., Filetti, F., Oriani, G. (2004). Fatty acid composition and cholesterol content of muscles as related to genotype and vitamin E treatment in crossbred lambs. *Meat Sci.*, 67, 45-55.

Samotyja, U., Malecka, M. (2007). Effects of blackcurrant seeds and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrates. *Food Chem.*, 104, 317-323.

Sánchez-Escalante, A., Djenane, D., Torrescano, G., Beltrán, J.A., Roncalés P. (2003). Antioxidant action of borage, rosemary, oregano, and ascorbic acid in beef patties packaged in modified atmosphere. *J. Food Sci.*, 68, 339-344.

Sánchez-Escalante, A., Torrescano Urrutia, G.R., Camou Arriola, J.P., González Méndez, N.F., Hernández Watanabe, G. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y los productos cárnicos. *Nacameh*, 2, 124-159.

Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W.S., Lachance, P.A., Ho, C.T., Rosen, R.T. (2002). Antioxidative Phenolic Compounds Isolated from Almond Skins (*Prunus amygdalus Batsch*). *J. Agric. Food Chem.*, 50, 2459-2463.

Santé-Lhoutellier, V., Engel, E., Gatellier, P. (2008). Assessment of the influence of diet on lamb meat oxidation. *Food Chem.*, 109, 573-579.

Sardi, L., Martelli, G., Lambertini, L., Parisini, P., Mordenti, A. (2006). Effects of a dietary supplement of DHA-rich marine algae on Italian heavy pig production parameters. *Livest. Sci.*, 103, 95-103.

Sayre, R.N., Briskey, E.J. (1963). Protein solubility as influenced by physiological conditions in the muscle. *J. Food Sci.*, 28, 674-679.

Scalbert, A., Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.*, 130, 2073-2085.

- Schaefer, E.J., Bongard, V., Beiser, A.S., Lamon-Fava, S., Robins, S.J., Au, R. (2006). Plasma phosphatidylcholine docosahexaenoic acid content and risk of dementia and Alzheimer disease: the Framingham heart study. *Arch. Neurol.*, 63, 1545-1550.
- Schmid, A., Colomb, M., Sieber, R., Bee, G. (2006). Conjugated linoleic acid in meat and meat products: a review. *Meat Sci.*, 73, 29-41.
- Schneider, C. (2005). Chemistry and biology of vitamin E. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 7-30.
- Schwarz, K., Bertelsen, G., Nissen, L.R., Gardner, P.T., Heinonen, M.I., Hopia, A., Huynh-Ba, T., Lambelet, P., McPhail, D., Skibsted, L.H., Tijburg, L. (2001). Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *Eur. Food Res. Technol.*, 212, 319-328.
- Scollan, N.D., Enser, M., Richardson, R.I., Gulati, S., Hallet, K.G., Nute, G.R. (2004). The effects of ruminally-protected dietary lipid on the lipid composition and quality of beef muscle. In: *Proceedings of the 50<sup>th</sup> international conference on meat science and technology*. pp. 116-116.
- Scollan, N.D., Choi, N.J., Kurk, E., Fisher, A.V., Enser, M., Wood, J.D. (2001). Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *Br. J. Nutr.*, 85, 115-124.
- Scollan, N.D., Hocquette, J.-F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, R.I., Maloney, A. (2006). Innovations in beef production systems that nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Sci.*, 74, 17-33.
- Seebeck, R.M., Tulloh, N.M. (1966). The representation of yield of dressed carcass. *Anim. Prod.*, 8, 281-288.
- Seven, A., Guzel, S., Seymen, O., Civelek, S., Bolayirili, M., Uncu, M., Burcak, G. (2004). Effects of Vitamin E supplementation on oxidative stress in streptozotocin induced diabetic rats: in vestigation of liver and plasma. *Yonsei Med. J.*, 45(4), 703-710.
- Shacter, E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab. Rev.*, 32, 307-326.

- Shah, M.A., Bosco, S.J.D., Mir, S.A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat 505 and meat products. *Meat Sci.*, 98, 21-33.
- Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung*, 44, 158-163.
- Shahidi, F., Rubin, L.J., Wood, D.F. (1987). Control of lipid oxidation in cooked ground pork with antioxidants and dinitrosyl ferrohemochrome. *J. Food Sci.*, 52, 584-587.
- Sies, H. (1985). Oxidative stress. Ed. Sies, H. Academic Press Publisher, Londres. pp. 507.
- Sies, H. (2005). Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.*, 215(2), 213-219.
- Simopoulos, A.P. (1999). Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 70, 560-569.
- Simopoulos, A.P. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp. Biol. Med.*, 233, 674-688.
- Simopoulos, A.P. (2011). Evolutionary aspects of diet: the omega-6/omega-3 ratio and the brain. *Mol. Neurobiol.*, 44, 203-215.
- Sinclair, L.A., Cooper, S.L., Chikunya, S., Wilkinson, R.G., Hallett, K.G., Enser, M., Wood, J.D. (2005). Biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids in the rumen and their effects on microbial metabolism and plasma fatty acid concentrations in sheep. *Anim. Sci.*, 81, 239-248.
- Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Vitic.*, 16, 144-158.
- Sirri, F., Minelli, G., Iaffaldano, N., Tallarico, N., Franchini, A. (2003). Oxidative stability and quality traits of n-3 PUFA enriched chicken meat. *Italian J. Anim. Sci.*, 2(1), 450-452.
- Smith, D.R. (1993). Lipid composition of red meat and factors that influence risk for coronary heart disease. *Revista de la Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia, Venezuela*, 10, 35-41.
- Smith, S.B. (1991). Dietary modification for altering fat composition of meat. In: *Fats and Cholesterol Reduced Foods*. Ed. M.C.E. Haberstroh C., Porfolio publishing. Texas. pp. 75.

- Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Ramma, A., Aruoma, O.I., Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutat. Res.*, 579, 200-213.
- Sreenath, H.K., Crandall, P.G., Baker, R.A. (1995). Utilization of citrus by-products and wastes as beverage clouding agents. *J. Ferment. Bioeng.*, 80, 190-194.
- St. Angelo, A.J., Crippen, K.L., Dupuy, H.P., & James Jr., C. (1990). Chemical and sensory studies of antioxidant-treated beef. *J. Food Sci.*, 55, 1501-1505
- Stadtman, E.R., Levine, R.L. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, 25(3-4), 207-218.
- Stahl, W., van den Berg, H., Arthur, J., Bast, A., Dainty, J., Faulks, R.M., Gärtner, C., Haenen, G., Hollman, P., Holst, B., Kelly, F.J., Polidori, M.C., Rice-Evans, C., Southon, S., van Vliet, T., Viña-Ribes, J., Williamson, G., Astley, S.B. (2002) Bioavailability and metabolism. *Mol. Aspects Med.*, 23, 39-100.
- Stan, K. (1992). Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. *Free Rad. Biol. Med.*, 12(1), 63-81.
- Stapelfeldt, H., Bjorn, H., Skibsted, L.H., Bertelsen, G. (1993). Effect of packaging and storage conditions on development of warmed-over flavor in sliced, cooked meat. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 196, 131-136.
- Steele, R. (2004). Understanding and measuring the shelf-life of food. Ed. Steele, R, Cambridge: Woodhead Publisher, Limited. pp. 448.
- Tomás-Barberán, F.A. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alim. Nutri. Salud.*, 10(2), 41-53.
- Tomás-Barberán, F.A., Espín, J.C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.*, 81, 853-876.
- Tomás-Barberán, F.A., Ferreres, F., Gil, M.I. (2000). Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing. *Studies in Natural Products Chemistry*. Ed. Atta-ur-Rahman. Elsevier Publisher, Amsterdam, 23, 739-795.

- Torrecilla, J.S. (2010). Phenolic compounds in olive oil mill wastewater. In: Olive and Olives Oil in Health and Disease Prevention. Eds Preedy, V.R., Watson R.R. Elsevier Academic Press Publisher, Inc. Amsterdam. pp. 357-365.
- Traber, M.G., Atkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic. Biol. Med.*, 43(1), 4-15.
- Traber, M.G., Goldberg, I., Davidson, E., Lagmay, N., Kayden, H.J. (1990). Vitamin E uptake by human intestinal cells during lipolysis in vitro. *Gastroenterology*, 98, 96-103.
- Tricon, S., Burdge, G.C., Kew, S., Banerjee, T., Russell, J.J., Grimble, R.F., Williams, C.M., Calder, P.C., Yaqoob, P. (2004). Effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on immune cell function in healthy humans. *Am. J. Clinic. Nutr.*, 80, 1626-1633.
- Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S., La Guardia, M. (2005). The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutr. Res. Rev.*, 18(1), 98-112.
- Turner, K.E., McClure, K.E., Weiss, W.P., Borton, R.J., Foster, J.G. (2002). Alpha-tocopherol concentrations and case life of lamb muscle as influenced by concentrate or pasture finishing. *J. Anim. Sci.*, 80, 2513-2521.
- Urquiaga, I., Leighton, F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol. Res.*, 33(2), 55-64.
- Urrutia, O., Mendizabal, J.A., Insausti, K., Soret, B., Purroy, A., Arana, A. (2016). Effects of addition of linseed and marine algae to the diet on adipose tissue development, fatty acid profile, lipogenic gene expression, and meat quality in lambs. *PLoS ONE*, 11(6), e0156765.
- Vagni, S., Saccone, F., Pinotti, L., Baldi, A. (2011). Vitamin E bioavailability: past and present insights. *Food Nutr. Sci.*, 2, 1088-1096.
- Valenzuela, A., Nieto, S., Cassels, B.K., Speisky, H. (1992). Inhibitory effect of boldine on fish oil oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 935-937.
- Valenzuela, B.A., Nieto, S.K. (1996). Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. *Grasas y Aceites*. 47, 186-196.

- Van der Sluis, A.A, Dekker, M., de Jager, A., Jongen, W.M. (2001). Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 3606-3613.
- Van Elswyk, M.E. (1997). Comparison of n-3 fatty acid sources in laying hen rations for improvement of whole egg nutritional quality. A review. *Br. J. Nutr.*, 78(S1), 61-69.
- Van het Hof, K.H., Wiseman, S.A., Yang, C.S., Tijburg, L.B. (1999). Plasma and lipoprotein levels of tea catechins following repeated tea consumption. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 220, 203-209.
- Vasta, V., Luciano G. (2011). The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Rumin. Res.*, 101, 150-159.
- Vázquez-Añón, M., Jenkins, T. (2007). Effects of feeding oxidized fat with or without dietary antioxidants on nutrient digestibility, microbial nitrogen, and fatty acid metabolism. *J. Dairy Sci.*, 90, 4361-4367.
- Velasco, S., Cañeque, V., Lauzurica, S., Pérez, C., Huidobro, F.R. (2004). Effect of different feeds on meat quality and fatty acid composition of lambs fattened at pasture. *Meat Sci.*, 66, 457-465.
- Venkatraman, J.T., Pinnavaia, L. (1998). Effects of saturated, n6 and n3 lipids on activities of enzymes involved in antioxidant defense in normal rats. *Nutr. Res.*, 18, 341-350.
- Ventanas, S., Estévez, M., Tejeda, J.F., Ruiz, J. (2006). Protein and lipid oxidation in *Longissimus dorsi* and dry cured loin from Iberian pigs as affected by crossbreeding and diet. *Meat Sci.*, 72, 647-655.
- Vergara, H., Gallego, L. (1999). Efecto del peso de sacrificio y el sexo en la calidad de la carne de corderos de raza Manchega. *ITEA*, 20(1), 140-141.
- Visioli, F., Galli, C. (2003). Olives and their production waste products as sources of bioactive compounds. *Curr. Top. Nutraceutical Res.*, 1, 85-88.
- Wachira, A.M., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Enser, M., Wood, J.D., Fisher, A.V. (2002). Effects of dietary fat source and breed on the carcass composition, n-3 polyunsaturated fatty

acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. *Br. J. Nutr.*, 88, 697-709.

Wahle, K.W.J., Heys, S.D., Rotondo, D. (2004). Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Prog. Lipid Res.*, 43, 553-587.

Wang, J.H., He, J.H., Yi, X., Li, Y., Zhao, Y.R. (2007). Effect of *Eucommia ulmoides Oliv* extracts on growth performance, carcass characteristics, meat qualities and muscular amino acid contents in growing pig. *Chin. J. Anim. Nutr.*, 19(3), 269-276.

Wang, X., Quinn, P.J. (1999). Vitamin E and its function in membranes. *Prog. Lipid Res.*, 38(4), 309-336.

Warriss, P.D. (2000). *Meat Science: an introductory text*. Ed. Warriss, P.D. Ed. CABI Wallingford, Publisher. Inglaterra. pp. 310.

Wasserman, A.E., Spinelli, A.M. (1972). Chemistry of Meat Flavor. In: Flavor chemistry of Lipid foods. Eds Min, D., Smouse, T.H. American of Oil Chemist Society, Champign, Illinois Publisher. pp. 166-189.

Waterhouse, A.L. (2002). Wine phenolics. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 957, 21-36.

Williams, C. (2000). Dietary fatty acids and human health. *Ann. Zootech.*, 49, 165-180.

Wood, J.D., Enser, M. (1997). Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *Br. J. Nutr.*, 78(1), S49-S60.

Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Whittington, F.M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review. *Meat Sci.*, 78, 343-358.

Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R., Enser, M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.*, 66, 21-32.

Wulf, D.M., Morgan, J.B., Sanders, S.K., Tatum, J.D., Smith, G.C., Williams, S. (1995). Effects of dietary supplementation of vitamin E on storage and caselife properties of lamb retail cuts. *J. Anim. Sci.*, 73, 399-405.

Xiong, Y.L. (2000). Protein oxidation and implications for muscle foods quality. In: Antioxidants in muscle foods. Eds Decker, E.A., Faustman, C., Lopez-Bote, C.J., Wiley-Intersciencepp Publisher. New York. pp. 85-111.

Xiong, Y.L., Decker, E.A. (1995). Alterations of muscle protein functionality by oxidative and antioxidative processes. *J. Muscle Foods*, 6, 139-160.

Yamamoto, M., Miyamoto, S., Moon, J.H., Murota, K., Hara, Y., Terao, J. (2006). Effect of dietary green tea catechin preparation on oxidative stress parameters in large intestinal mucosa of rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70, 286-289.

Yu, B.P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.*, 74(1), 139-162.

Zadernowski, R., Czaplicki, S., Naczek, M. (2009). Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chem.*, 112, 685-689.

Zamora, J. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Rev. Chil. Nutr.*, 34(1), 17-26.

Zrelli, H., Matsuoka, M., Kitazaki, S., Zarrouk, M., Miyazaki, H. (2011). Hydroxytyrosol reduces intracellular reactive oxygen species levels in vascular endothelial cells by upregulating catalase expression through the AMPK-FOXO3a pathway. *Eur. J. Pharmacol.*, 660, 275-282.

***ANEXO I: ABREVIATURAS***

---

**ANEXO I: ABREVIATURAS**

ALA: ácidos linolénico (C18:3n3)

ATT: índices de aterogenicidad

BHA: hidroxibutilanisol

BSA: albúmina sérica bovina

B.O.E.: Boletín Oficial del Estado

CAT: enzima catalasa

CIE: Commission International de l'Eclairage

DFA: ácidos grasos deseables

DHA: ácido docosahexaenoico (C22:6n3)

DNPH: 2,4 dinitrofenilhidrazina

DPA: ácido docosapentaenoico (C22:5n3)

DTNB: 5,5'-ditiobis- (ácido 2-nitrobenzoico)

DTPA: ácido diethylentriaminepentaacético

EDTA: ácido etilén diamino tetra acético

EE: error estándar

EFSA: European Food Safety Authority

EPA: ácido eicosapentaenoico (C20:5n3)

FAMES: ésteres metílicos de los ácidos grasos

FAOSTAT: Organización de las naciones unidas para la alimentación dirección de estadística

FID: detector de ionización de llama

GAE: equivalentes de ácido gálico

GMD: ganancia media diaria

GPX: enzima glutathion peroxidasa

GSH: glutathion

HPLC: cromatógrafo líquido de alta resolución

INIA: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, España

LD: músculo *Longissimus dorsi*

m.f.: materia fresca

m.s.: materia seca

MAGRAMA: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

MAP: atmósfera modificada

MDA: malonaldehído

MetMb: metamioglobina

MUFA: ácidos grasos monoinsaturados

n3: ácidos grasos poliinsaturados omega 3

n6: ácidos grasos poliinsaturados omega 6

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

PCC: peso canal caliente

PCF: peso de la canal fría

PR: pérdidas por refrigeración

PUFA: ácidos grasos poliinsaturados

PVI: peso vivo inicial

PVS: peso vivo al sacrificio

RC: rendimiento a la canal

ROS: especies reactivas del oxígeno

RL: radical libre

SDS: dodecil sulfato de sodio

SFA: ácidos grasos saturados

SOD: enzima superóxido dismutasa.

ST: músculo *Semitendinosus*

TBA: ácido tiobarbitúrico

TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

TCA: ácido tricloroacético

TPC: contenido de polifenoles totales

TRIS: tris (hidroximetil) aminometano