

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE ZOOTECNIA Y ECOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**ESTABILIDAD OXIDATIVA Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN CARNE DE
OVINOS ALIMENTADOS CON ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (CARVACROL)**

POR:

I.Z.S.P. JOSÉ ARTURO ARRAS ACOSTA

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ÁREA MAYOR EN TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS DE ORIGEN
ANIMAL**

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

OCTUBRE DE 2017



Estabilidad oxidativa y perfil de ácidos grasos en carne de ovinos alimentados con aceite esencial de orégano (Carvacrol). Tesis presentada por José Arturo Arras Acosta como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias, ha sido aprobada y aceptada por:

Ph. D. Carlos Ortega Ochoa
Director de la Facultad de Zootecnia y Ecología

Ph. D. Alma Delia Alarcón Rojo
Secretario de Investigación y Posgrado

D.Ph. Agustín Corral Luna
Coordinador Académico

Ph. D. Iván Adrián García Galicia
Presidente

02 de Octubre de 2017

Fecha

Comité:

Ph. D Iván Adrián García Galicia
Ph. D. Alma Delia Alarcón Rojo
Dr. Juan Ángel Ortega Gutiérrez
Dra. Mariana Huerta Jiménez

© Derechos Reservados

NOMBRE JOSÉ ARTURO ARRAS ACOSTA
DIRECCIÓN: PERIFÉRICO FRANCISCO R.
ALMADA KM. 1, CHIHUAHUA, CHIH.,
MÉXICO C.P. 31453
OCTUBRE DE 2017

DEDICATORIA

Con todo el amor a mí esposa, hija, padres y hermanos, por todo el apoyo, paciencia y buenos consejos que me han brindado durante este trayecto, así también por motivarme para cumplir retos y superar las adversidades.

A la Facultad de Zootecnia y Ecología que a través de la Secretaria de Investigación y Posgrado me ha permitido ser parte de la institución.

A los maestros y compañeros que de manera directa e indirecta contribuyeron en mi formación como Maestro en Ciencias.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por sus bendiciones y la oportunidad de cursar la Maestría en Ciencias.

A mi esposa Gabriela Sarahí Rodríguez por darme el amor y apoyo incondicional y ser la mujer que me motiva para cumplir metas y retos en la vida.

A mi hija Valentina Ixchel Arras Rodríguez por ser la persona que me impulsa a seguir adelante y me da la fuerza para afrontar los retos que se presentan.

A José Arturo Arras y Verónica Acosta por el apoyo y por el amor que me brindan cada día de mi vida.

Al Dr. Iván Adrián García por su dedicación, apoyo, orientación y compartir sus conocimientos durante todo este tiempo.

A mi comité de tesis Dra. Alma Alarcón, Dra. Mariana Huerta y al Dr. Juan Ángel Ortega, por las observaciones y orientación constructivas que me hicieron durante el periodo de maestría.

Al CONACYT por el apoyo económico brindado a través de la beca de estudios para posgrado.

A la Universidad Autónoma de Chihuahua por su compromiso en la formación de investigadores.

CURRICULUM VITAE

El autor nació el 5 de marzo de 1989 en la ciudad de Delicias Chihuahua, Mex.

2007 - 2011 Estudio de Licenciatura en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la universidad Autónoma de Chihuahua, en la carrera de Ingeniero Zootecnista en Sistemas de Producción.

RESUMEN

ESTABILIDAD OXIDATIVA Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN CARNE DE OVINOS ALIMENTADOS CON ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO.

POR:

I.Z.S.P. JOSÉ ARTURO ARRAS ACOSTA

Maestría en Ciencias en Producción Animal

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Los aceites esenciales de orégano pueden ser una alternativa en la búsqueda actual de preservadores naturales para alimentos. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la estabilidad oxidativa de la carne de ovino suplementados con diferentes dosis de aceite de orégano, así como su impacto en el color, la textura y el perfil de ácidos grasos. Se utilizaron 20 músculos *Longísimus dorsi* de ovinos (7 meses de edad aprox.) que habían sido distribuidos aleatoriamente en cinco tratamientos con diferentes niveles de aceites esenciales de orégano/60 d: Control Negativo (CON) = Dieta basal; Control Positivo = Dieta basal + Rumensin (RUM), Aceite Bajo (OB)= Dieta basal + 0.2 g/kg; Aceite Medio (OM)= Dieta basal + 0.3g/kg; Aceite Alto (OA)= Dieta basal + 0.4 g/kg. Se evaluaron características de calidad como: Textura, color en anaquel, cantidad de MDA y perfil de ácidos grasos. Se observó una diferencia entre tratamientos en la fuerza de corte ($P=0.029$). El tratamiento OM mostró menor fuerza (12.51 ± 1.13 kg/cm³) con respecto a los otros tratamientos. Cortes

de 2 cm de grosor fueron almacenados individualmente en atmosfera modificada (75% oxígeno y 25% CO₂) a una temperatura de 4°C±1 durante 7 d para evaluar su color. El tratamiento OM presentó valores de color más altos, principalmente en la coordenada a* (P<0.001), con respecto al CON, OB y RUM. El tratamiento OM mostró también las concentraciones más altas en la mayoría de los ácidos grasos de importancia como; C16:1n⁷ (9.51±1.27), C18:1n⁹ (472.97±56.18), C18:1n⁶ (30.18±3.53), C20:1n⁹ (7.88±0.68) y C18;2n⁶ (27.10± 2.94). A pesar de haber mostrado un efecto sobre las variables anteriores, OM no tuvo efecto significativo (P>0.5) sobre la formación de MDA. El tratamiento OA presentó valores ligeramente mayores (11.50±1.24 mg MDA/kg) y el tratamiento RUM con menores (7.93±1.24 mg MDA/kg). Se concluye que bajo las condiciones del presente estudio, la suplementación de niveles medios de aceites esenciales en la dieta de ovinos ofreció ventajas en el color, la textura y el perfil de ácidos grasos del músculo *L. dorsi*.

ABSTRACT

OXIDATIVE STABILITY AND PROFILE OF FATTY ACIDS IN MEAT OF SHEEP FEEDED WITH ORÉGANO ESSENTIAL OIL.

BY:

JOSÉ ARTURO ARRAS ACOSTA

Oregano essential oils can be an alternative in the current search for natural preservers for food. The objective of the present investigation was to evaluate the oxidative stability of sheep meat supplemented with different doses of oregano oil, as well as its impact on color, texture and fatty acid profile. Twenty *Longíssimus dorsi* muscles from sheep (7 months of age approx.) were randomly assigned to five treatments with different levels of oregano / 60 d essential oils: Negative Control (OR) = Basal diet; Rumensin = Basal Diet + Rumensin (RUM), Low Oil (OB) = Basal diet + 0.2 g / kg; Average Oil (OM) = Basal diet + 0.3g / kg; High Oil (OA) = Basal diet + 0.4 g / kg. Quality characteristics such as: texture, shelf color, amount of MDA and fatty acid profile were evaluated. There was a difference between treatments in shear force ($P = 0.029$). The OM treatment showed lower strength (12.51 ± 1.13 kg / cm³) with respect to the other treatments. Cutoffs of 2 cm thickness were stored individually in modified atmosphere (75% oxygen and 25% CO₂) at a temperature of $4 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1$ for 7 d to evaluate their color. The OM treatment had higher color values, mainly in the coordinate a^* ($P < 0.001$), with respect to the NOC, OB and RUM. The OM treatment also showed the highest concentrations in most of the fatty acids of

importance as; C16: 1n7 (9.51 ± 1.27), C18: 1n9 (472.97 ± 56.18), C18: 1n6 (30.18 ± 3.53), C20: 1n9 (7.88 ± 0.68) and C18: 2n6 (27.10 ± 2.94). Despite having shown an effect on the above variables, OM had no significant effect ($P > 0.5$) on the formation of MDA. The OA treatment presented slightly higher values (11.50 ± 1.24 mg MDA / kg) and the RUM treatment with minors (7.93 ± 1.24 mg MDA / kg). It is concluded that under the conditions of the present study, supplementation of OM in the sheep diet offered advantages on color, texture and fatty acid profile of *L. dorsis* muscle.

CONTENIDO

RESUMEN	vi
ABSTRACT	viii
LISTA DE CUADROS	xii
LISTA DE GRAFICOS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Lípidos	3
Oxidación de Lípidos	4
Factores <i>Pre-Mortem</i> que Afectan la Proporción de Ácidos Grasos	4
Raza.....	4
Dieta.....	5
Ácidos Grasos en la Dieta del Humano	5
Color en Carne	5
Mioglobina	8
Efecto de la Congelación Sobre el Color de la Carne	9
Influencia del Orégano en el Color de la Carne.....	11
Textura	14
Grasa Intramuscular y Tejido Conectivo Impactando en la Suavidad de la Carne.....	15
pH Final y Proteólisis <i>Post-mortem</i>	17
Aceites Esenciales.....	23
Propiedad Antioxidante del Aceite Esencial de Orégano	23
Rumensí (monensina sodica)	27
Uso de Empaques con Atmósfera Modificada para Carne	30
Dióxido de carbono.....	31
Oxígeno	32
MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
Manejo de Animales y Tratamientos	33
Análisis de Laboratorio	34
Oxidación de Lípidos	34

Dureza de la Carne.....	35
Color	35
Extracción del Perfil de ácidos grasos	36
Análisis de Datos.....	43
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
Oxidación de la Carne de Borrego	45
Textura	49
Color Durante la Vida de Anaquel	53
Perfil de Ácidos Grasos en Grasa Total de la Carne	58
Ácidos Grasos Saturados, C:14, C:16 y C18.....	58
Ácidos Grasos Monoinsaturados C16:1 n ⁷ , C18:1n ⁹ y C20:1n ⁹	61
Ácido Graso Poli-insaturado C18:2n ⁶	61
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	66
BIBLIOGRAFIA.....	67

LISTA DE CUADROS

Cuadros		Página
1	Aceites esenciales y terpenoides reportados en diferentes especies de orégano.....	26
2	Medias de valores TBARS (<i>Thiobarbituric acid reactive sustances</i> , mg MDA/kg de carne) en <i>Longissimus lumborum</i> de ovinos con diferente nivel de suplementación de aceite esencial de orégano (nivel alto = 0.4 g/kg BS; nivel medio = 0.3 g/kg BS; nivel bajo = 0.2 g/kg BS) o el ionóforo rumensin® (P=0.284).....	48
3	Fuerza de corte (kgf ± E.E.) en músculo <i>L. lumborum</i> de ovinos suplementados con Rumensin ® o con tres diferentes niveles de aceites esenciales de orégano (Nivel alto = 0.4 g/kg BS; nivel medio = 0.3 g/kg BS; nivel bajo = 0.2g/kg BS).....	52
4	Porcentaje de ácidos grasos contenidos en grasa total de <i>Longissimus lumborum</i> de ovinos con diferente nivel de suplementación en la dieta de aceites esenciales de orégano (Aceite alto = 0.4 g/kg BS; aceite medio = 0.3 g/kg BS; aceite bajo = 0.2 g/kg BS) o rumensin®.....	60
5	Concentración de ácidos grasos saturados (mg/kg de músculo) contenidos en grasa total de <i>Longissimus lumborum</i> de ovinos con diferente nivel de suplementación en la dieta de aceites esenciales de orégano (alto = 0.4 g/kg BS; medio = 0.3 g/kg BS; bajo = 0.2 g/kg BS) o rumensin®.....	61
6	Concentración de ácidos grasos monoinsaturados (mg/kg de músculo) contenidos en grasa total de <i>Longissimus lumborum</i> de ovinos con diferente nivel de suplementación en la dieta de aceites esenciales de orégano (Nivel alto = 0.4 g/kg BS; Nivel medio = 0.3 g/kg BS; Nivel bajo = 0.2 g/kg BS) o rumensin®.....	65
7	Concentración de C18:2n ⁶ (mg/kg de músculo) contenido en grasa total de <i>Longissimus lumborum</i> de ovinos con diferente nivel de suplementación en la dieta de aceites esenciales de orégano (Nivel alto = 0.4 g/kg BS; Nivel medio = 0.3 g/kg BS; Nivel bajo = 0.2 g/kg BS) o rumensin®.....	67

LISTA DE GRAFICOS

Graficos		Página
1	Media (\pm E.E.) del valor a* (tendencia al rojo) en músculo <i>L. lumbrorum</i> de ovinos suplementados con Rumensin ® o con tres diferentes niveles de aceites esenciales de orégano (A aceite= nivel alto, 0.4 g/kg BS; M aceite= nivel medio, 0.3 g/kg BS; B aceite= nivel bajo, 0.2 g/kg BS), durante siete días en simulación en anaquel con empaque en atmósferas modificadas (O ₂ :CO ₂ , 75:25%).....	56
2	Media (\pm E.E.) del valor b* (tendencia al amarillo) en músculo <i>L. lumbrorum</i> de ovinos suplementados con Rumensin ® o con tres diferentes niveles de aceites esenciales de orégano (A aceite= nivel alto, 0.4 g/kg BS; M aceite= nivel medio, 0.3 g/kg BS; B aceite= nivel bajo, 0.2 g/kg BS), durante siete días en simulación en anaquel con empaque en atmósferas modificadas (O ₂ :CO ₂ , 75:25%).....	57
3	Media (\pm E.E.) del valor C* (Saturación) en músculo <i>L. lumbrorum</i> de ovinos suplementados con Rumensin ® o con tres diferentes niveles de aceites esenciales de orégano (A aceite= nivel alto, 0.4 g/kg BS; M aceite= nivel medio, 0.3 g/kg BS; B aceite= nivel bajo, 0.2 g/kg BS), durante siete días en simulación en anaquel con empaque en atmósferas modificadas (O ₂ :CO ₂ , 75:25%).....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Porcentaje de metamioglobina y el tiempo de almacenamiento durante 28 días a una temperatura de 1 ± 1 °C	7
2	Porcentaje que existe entre el malonaldehído con el tiempo de almacenamiento por 28 días y una temperatura de 1 ± 1 °C	8
3	Cambios en el porcentaje de metmioglobina en la superficie de filetes de carne empacada en bolsa, control (x), 0.5% orégano en película activa (□), 1% orégano en película activa (Δ), el 2% de orégano en película activa (■), 4% orégano en película activo (●) o con extracto de orégano añadido (▲) almacenada a 1 ± 1 ° C bajo iluminación (Camo <i>et al.</i> , 2011).....	13
4	Cambios en CIE a * en filetes de carne empacada en bolsa, control (x), 0.5% orégano en película activa (□), 1% orégano en película activa (Δ), el 2% de orégano en película activa (■), 4% orégano en película activo (●) o con extracto de orégano añadido (▲) almacenada a 1 ± 1 ° C bajo iluminación(Camo <i>et al.</i> , 2011).....	14
5	Efecto de la deposición de grasa intramuscular en la estructura del TCIM. Durante el crecimiento del animal los enlaces cruzados de colágeno del perimisio y epimisio se vuelven más estables, contribuyendo al endurecimiento de la carne. Sin embargo, la deposición de grasa intramuscular principalmente en el perimisio la cual resulta en marmoleo. Esto provoca una modificación en la matriz extracelular (MEC), contribuyendo al textura de la carne (Takanori Nishimura, 2010).....	17
6	Efecto de la deposición de grasa intramuscular en la estructura del TCIM. Durante el crecimiento del animal los enlaces cruzados de colágeno del perimisio y epimisio se vuelven más estables, contribuyendo al endurecimiento de la carne. Sin embargo, la deposición de grasa intramuscular principalmente en el perimisio la cual resulta en marmoleo. Esto provoca una modificación en la matriz	

	extracelular (MEC), contribuyendo al textura de la carne (Takanori Nishimura, 2010).....	19
7	Micrografía electrónica de la estructura del tejido conectivo intramuscular de bovino del M. semitendinoso después de la eliminación de la proteína del músculo esquelético. Arriba a la izquierda muestra el epimisio (EP), y la parte inferior ilustra el perimisio (P), así como el endomisio (E). En la parte superior derecha, se muestra el endomisio que rodea una fibra muscular esquelética individual (T Nishimura, Hattori, y Takahashi, 1994).....	20
8	Estructura química de aceites esenciales presentes en orégano y otras plantas (Jayasena y Jo, 2013).....	23
9	Estructura química del Carvacrol (izquierda) y del Timol (Derecha) (Landbouwcatalogus, 2000).....	29
10	Estructura química de la monensina sódica (Rumensin)...	30
11	Representación del color en escala CIE L*a*b*. (CIE 2004).....	38
12	<i>M. longissimus lumborum</i>	39

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de alimentación de animales para abasto hoy en día se ven afectados positivamente por aditivos que favorecen un mejor desarrollo de los animales. Esto a su vez modifica la velocidad de crecimiento, la conformación, la composición de tejidos del animal, la composición de nutrientes en la carne, la estabilidad y vida útil, y el aspecto; con el inherente resultado de producir más carne en un sistema de producción en el cual la cantidad es el principal estimador de eficiencia. Sin embargo, la tendencia mundial en la producción de cualquier alimento, se está transformando por una demanda cada vez mayor de alimentos “saludables” por parte de los consumidores. El caso de la producción de carne no es la excepción. Las últimas tendencias en la demanda del mercado de la carne, además de lo saludable, es que esta sea “natural” u “orgánica”. Es decir, que no se utilicen promotores de crecimiento sintéticos ni con propiedades acumulativas en el animal y por tanto que se puedan transferir al humano a través del consumo de la carne.

Por lo antes mencionado, gran parte de la investigación a nivel mundial, se está ansiosamente dirigiendo a buscar alternativas que satisfagan esa demanda de productos naturales por el consumidor. Explorando nuevos ingredientes y extractos naturales, que resulten además de benéficos en términos productivos, inocuos para el consumidor.

El estudio de los extractos de plantas es un campo que, aunque no reciente, en la actualidad presenta un potencial muy extenso para la exploración de componentes químicos que podrían ser benéficos directa o indirectamente para el

animal que los consume o para el humano que consume la carne de dichos animales.

El Carvacrol es un compuesto fenólico que se ha encontrado en varias plantas aromáticas. Sin embargo, la planta de orégano es una de las fuentes principales de dicho compuesto. La extracción del aceite esencial de orégano es relativamente fácil. En dicho aceite se encuentran principalmente Carvacrol y otro compuesto fenólico en abundancia conocido como Timol. Ambos compuestos han demostrado tener altas características antioxidantes y antimicrobianas (Aguirre *et al.*, 2013; Boroski *et al.*, 2012) y han sido probados en especies como cerdos, pollos y bovinos. Aparentemente, las especies no rumiantes presentan una mejor respuesta a la adición de carvacrol a través de aceites esenciales de orégano en la dieta observándose la actividad antimicrobiana y antioxidante resultante en la carne de dichos animales Camo *et al.*, 2011; Chouliara *et al.*, 2007; Gallo *et al.* 2012; Karabagias *et al.* 2011; Petrou *et al.*, 2012; Simitzis *et al.* 2010).

Desafortunadamente, aún no existe evidencia abundante sobre los beneficios en rumiantes pequeños como los ovinos y caprinos. Específicamente no se localiza información sobre la influencia de los aceites esenciales de orégano, en la estabilidad oxidativa y el perfil de ácidos grasos en carne de ovinos. El objetivo de este estudio fue comparar tres distintos niveles de aceite esencial de orégano en la dieta de borregos contra un grupo control y contra un grupo de referencia suplementado con monensina sódica, para determinar si existe algún efecto sobre parámetros físicos y químicos en la carne de los animales, se evaluó el perfil de ácidos grasos, la oxidación de lípidos y parámetros como suavidad y color.

REVISIÓN DE LITERATURA

Lípidos

La grasa en la carne está presente en forma de membrana celular (fosfolípidos), o grasa inter e intra-muscular, la grasa en la carne se le puede relacionar con jugosidad, aroma y ternura y la grasa de mayor interés es la relacionada con la composición de ácidos grasos, ya que se les relaciona con un impacto en la salud humana.

Los ácidos grasos en los lípidos de los tejidos pueden ser saturados o insaturados y pueden también ser parte de la fracción neutra de triglicéridos (triacilglicerolos) o parte de la fracción de fosfolípidos. Los ácidos grasos libres son deficientes en electrones en el átomo de oxígeno del grupo carbonilo ($C = O$); ácidos grasos insaturados son también deficientes de electrones en los puntos de insaturación carbono-carbono ($C = C$). Estas regiones deficientes en electrones incrementan la susceptibilidad de los ácidos grasos al ataque de una variedad de agentes oxidantes y de alta energía que generan los radicales libres. Los triglicéridos contienen cadenas lineales de ácidos grasos principalmente de 16 a 18 de carbono y cantidades mínimas de ácidos grasos insaturados. Fosfolípidos de las membranas de tejido contienen hasta 15 veces la cantidad de ácidos grasos insaturados (C18: 4, C20: 4, C20: 5, C22: 5, y C22: 6) que se encuentran en los triglicéridos. Estos son mucho más susceptibles a la oxidación debido al aumento en el número de puntos de insaturación carbono-carbono ($C = C$) (Brewer, 2011).

Oxidación de Lípidos

Existen factores bioquímicos los cuales afectan las cadenas de radicales lipídicas provocando la producción de aldehídos los cuales son los causantes de la aparición de sabores indeseables de rancidez en la carne (Brewer, 2011; Sun y Holley, 2012).

El deterioro oxidativo de lípidos también llamado per-oxidación puede surgir por la acción de radicales libres, que se originan principalmente por dos vías. La primera como auto-oxidación y la segunda por medio de reacciones enzimáticas (Feiner, 2006). La auto-oxidación puede afectar a las grasas insaturadas, por medio de una reacción en cadena de radicales libres. Se menciona que si la cantidad de dobles enlaces en el ácido graso es elevada la velocidad de oxidación tiende a ser más rápida; esto se da con mayor frecuencia en los ácidos grasos mono y poli-insaturados (Sun y Holley, 2012), así como el aumento de temperatura, los iones de hierro y cobre favorecen a la oxidación (Jamilah *et al.* 2008).

Factores *Pre-Mortem* que Afectan la Proporción de Ácidos Grasos

Existen múltiples factores que afectan la proporción de ácidos grasos entre los más importantes esta la raza y la dieta, donde se puede observar el aumento de los ácidos grasos insaturados o ácidos grasos saturados así como la relación entre ellos.

Raza. La diferencias de raza es una factor que influye en el perfil de lípidos y específicamente los ácidos grasos en los tejidos bovinos, esto se debe a que algunas razas tienden a almacenar una mayor cantidad de grasa en la carne a

diferencia de que otros, y por lo tanto esto se ve reflejado en una mayor cantidad de ácidos grasos (Mir *et al.*, 2004).

Dieta. Las dietas en animales alimentados a base de hierba pueden mejorar significativamente la composición de ácido graso. Dietas a base de hierba mejoran el contenido total de ácido linoléico conjugado (ALC) (C18: 2), ácido graso vaccénico trans (TVA) (C18: 1 t11), un precursor de ALC y omega-3 (n-3). Mientras que la carne de bovino finalizada con grano tiene una mayor proporción de colesterol neutral esteárico (C18: 0), y menos ácidos grasos saturados tales como mirístico (C14: 0) y palmítico (C16: 0) AF (Daley *et al.*, 2010).

Ácidos Grasos en la Dieta del Humano

Los efectos benéficos de los ácidos grasos de cadena larga n-3 o ácidos grasos poli-insaturados (PUFA), ácido eicosapentaenóico (EPA; 20:5n-3), ácido docosahexaenóico (DHA; 22:6n-3) y ácido linoléico conjugado (CLA) ayudan a reducir problemas cardiovasculares, cáncer, diabetes tipo-2 y jugando un rol crítico en las funciones del cerebro, para el desarrollo visual en el feto así como para el mantenimiento de los tejidos neurales y visuales durante toda la vida (Russo, 2009).

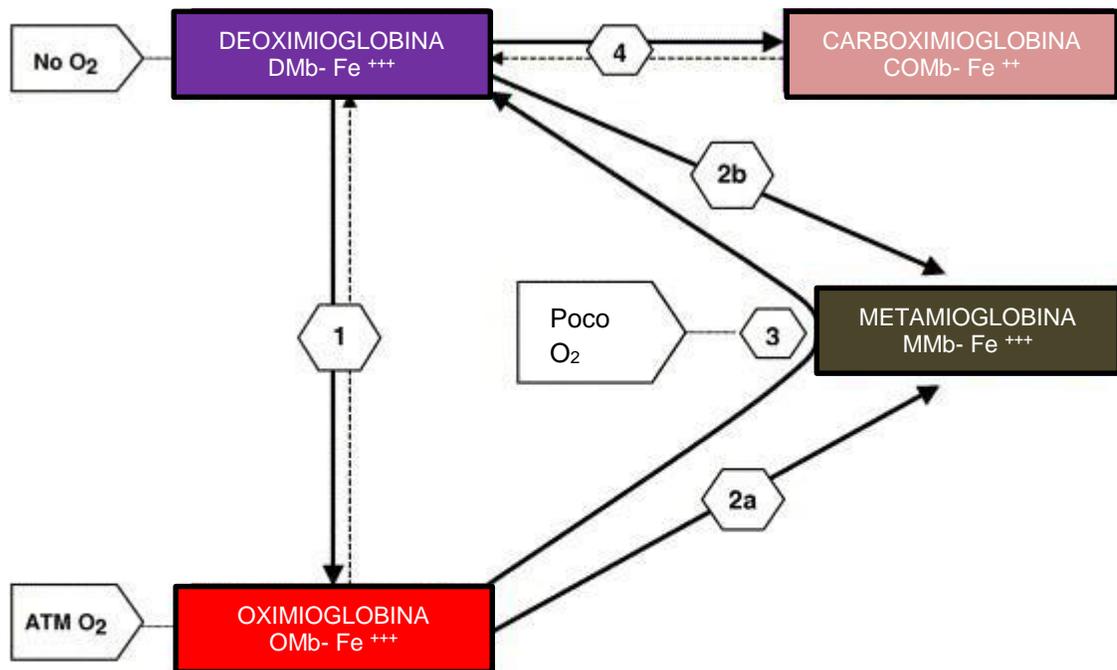
Color en Carne

El color de la carne es el elemento más importante que influye en la decisión del consumidor para comprar el producto. Los consumidores asocian fuertemente el color de la carne con la calidad, una coloración de color marrón en la carne se asocia con una falta de frescura y un color rojo cereza se le considera como un producto fresco y saludable. El pigmento en la carne es un elemento muy variable y su estabilidad está controlada por múltiples factores. Estos pueden ser factores

exógenos, es decir, condiciones externas al animal, o condiciones innatas al animal como la distribución de pigmento en el tejido. Los factores externos, han sido menos atendidos por la investigación, por lo que un entendimiento mayor sobre estos factores permitirán prolongar en mayor cantidad la estabilidad del color en la carne fresca (Faustman y Cassens, 1990).

El color de la carne está influenciado principalmente por el pigmento mioglobina contenido en el músculo y su estado redox (reducción-oxidación), el cual puede estar en cualquiera de sus cuatro principales formas químicas (Figura 1). También el color puede variar dependiendo a factores exógenos como la especie, tipo de músculo, la función muscular, pH, la edad del animal, genotipo, entre otros (Barbut, 2001; Boylston *et al.*, 2012; Hopkins y Mortimer, 2014).

Es de suma importancia alargar la permanencia de la oximioglobina en la carne, ya que esto resulta en el color rojo brillante a partir de la oxigenación de la mioglobina. Esta oxigenación surge a partir de la exposición de la carne fresca al aire del medio ambiente para dar origen a un efecto denominado “blooming”. El cual ocurre a partir de 30 minutos de su exposición al aire (Wongwichian *et al.*, 2015). Este proceso se puede acelerar mediante la reducción de la temperatura.



Rx 1 (Oxigenación): $DMb + O_2 \rightarrow OMb$

Rx 2a (Oxidación): $OMb + [\text{consumo de oxígeno o baja presión de } O_2] -e^- \rightarrow MMb$

Rx 2b (Oxidación): $[DMb - \text{ion hidroxilo} - \text{Complejo de iones de hidrogeno}] + O_2 \rightarrow MMb + O_2^-$

Rx 3 (Reducción): $MMb + \text{Oxígeno consumo} + \text{actividad reductora de metamioglobina} \rightarrow DMb$

Rx 4 (Carboximioglobina): $DMb + \text{Monóxido de carbono} \rightarrow COMb$

Figura 1. Esquema de las cuatro reacciones redox de la mioglobina en la superficie de la carne (Mancini y Hunt, 2005).

Posterior a esta reacción de oxigenación, se observa la forma oxidada de la mioglobina denominada metamioglobina, la cual da un color marrón a la superficie de la carne. En cantidades de un 30 a 40%, la metamioglobina afecta notablemente la apariencia y valor nutricional de la carne en forma negativa, ya que existe una correlación entre la oxidación de la mioglobina y la oxidación de los lípidos. Esto último afecta la decisión de los consumidores de adquirir o no el producto en cuanto a su apariencia (Pearson y Dutson, 1994; Wongwichian *et al.*, 2015).

Mioglobina

La mioglobina es una de las proteínas de mayor abundancia dentro del sarcoplasma y es el principal pigmento en la carne. Esta proteína representa del 90 al 95% de las hemo-proteínas. El aumento de esta proteína hará que el color de la carne vaya desde blanco, a rosa, rojo y hasta rojo muy oscuro (Boylston *et al.*, 2012). Sin embargo, el citocromo y otros pigmentos también pueden contribuir con la coloración en la carne, pero en una menor proporción. Con un buen desangrado se reducen cantidades significativas de sangre, la sangre (hemoglobina) restante se puede encontrar en los vasos sanguíneos dentro del esqueleto y puede contribuir al color de la carne (Brewer, 2014).

La mioglobina está compuesta por una proteína globina constituida por 153 aminoácidos y un grupo prostético hemo con una masa molecular de 16951 Da. En el músculo vivo la mioglobina se encarga de almacenar oxígeno y transportarlo, se encuentra principalmente en el músculo esquelético y músculo cardíaco donde se requieren de grandes cantidades de oxígeno. La mioglobina es una proteína soluble en agua la cual contiene una cadena polipeptídica de globina que consta de 8 α -

hélices que van de A-H, que forman una bobina alrededor de la molécula hemo. A su vez la molécula mioglobina está compuesta por un grupo hemo hidrofóbico de tal manera que los grupos vinil están orientados hacia el interior hidrofóbico, y el grupo de ácido propiónico hacia el otro lado de la molécula. El grupo hemo de la mioglobina contiene un átomo de hierro el cual puede estar en su forma reducida ferroso (Fe^{2+}) o en su forma oxidada férrico (Fe^{3+}) (Mancini y Hunt, 2005; Suman y Joseph, 2013).

Efecto de la Congelación Sobre el Color de la Carne

Se ha demostrado que la carne congelada independientemente del método de congelación (Chorro de aire, túnel de congelación, o cámara de nitrógeno) difiere en color con respecto a la carne fresca. El proceso de congelación-descongelación acelera el deterioro del color durante un proceso de almacenamiento a baja temperatura (4°C). Esto se debe a la ruptura de las estructuras físicas (

Figura 2) provocado por los cristales de hielo formados durante la congelación y descongelación, cabe señalar que entre más veces la carne sea congelada y descongelada mayor será el daño a la estructura. Los daños a la fibra muscular provocan la liberación de enzimas en sarcoplasma, las cuales están involucradas en la formación de metamioglobina (Jeong, et al., 2011; Leygonie *et al.*, 2012).

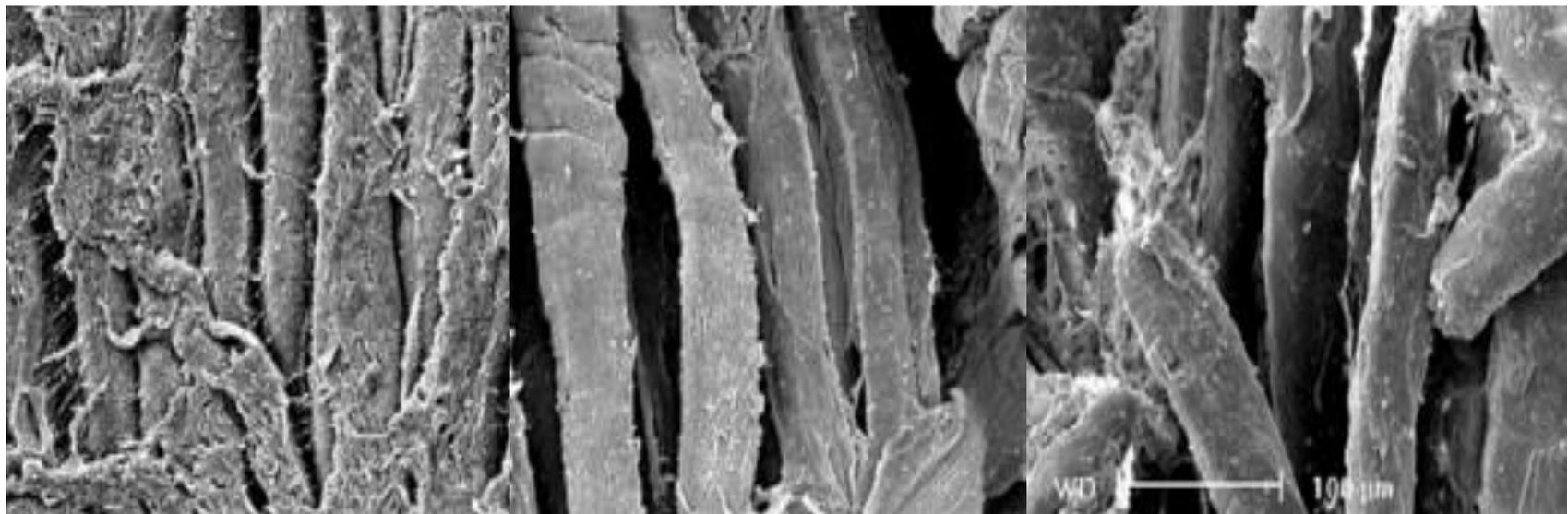


Figura 2. Fotomicrografía de la estructura de las fibras musculares de carne de bovino del músculo *semimembranosus* tomada a diferentes ciclos de congelación-descongelación en comparación con carne fresca. Ampliación e $\times 200$ y barra indica 100 micras (Jeong *et al.*, 2011).

Influencia del Orégano en el Color de la Carne

Debido a sus propiedades antioxidantes y antibacterianas del orégano (Aguirre *et al.*, 2013; Boroski *et al.*, 2012; Botsoglou *et al.*, 2003) principalmente debido a sus diferentes formas de acción como antioxidante ayudan a proteger a la mioglobina de la oxidación, reduciendo la presencia de radicales libres como por ejemplo los formados por la oxidación del ácido linolenico los cuales afecta el color amarillo producido por el β -caroteno en grasa y carne (Cavero *et al.*, 2006; Chun *et al.*, 2005; Cittera *et al.*, 2000; Kulisic *et al.*, 2004). A su vez existe una correlación entre el porcentaje de metamioglobina y los valores de CIE a^* (color rojo) donde el aumento de metamioglobina en la carne disminuye el valor de CIE a^* (rojo-verde) (Camo *et al.*, , 2011) (Figura 3 y Figura 4).

La adición de aceite de orégano de manera directa sobre la carne o aplicada como suplemento en la alimentación de cerdos, pollos, borregos y bovinos, ayudan a la estabilidad del color, alargando la vida de anaquel y reduciendo la formación de metamioglobina (Camo *et al.*, 2011; Chouliara *et al.*, 2007; Gallo *et al.*, 2012; Karabagias *et al.*, 2011; Petrou *et al.*, 2012; Simitzis *et al.*, 2010).

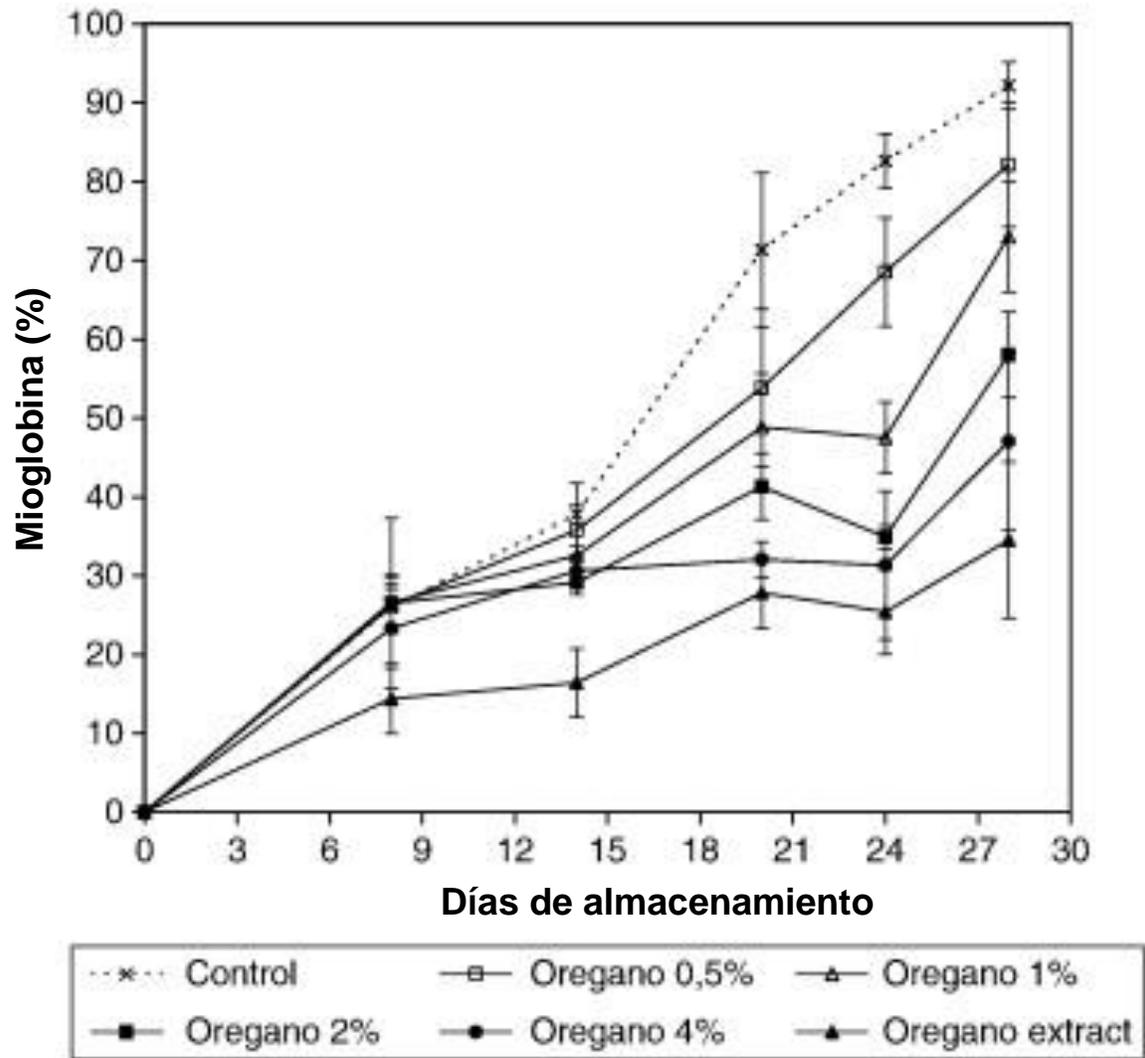


Figura 3. Cambios en el porcentaje de metmioglobina en la superficie de filetes de carne empacada en bolsa, control (x), 0.5% orégano en película activa (□), 1% orégano en película activa (Δ), el 2% de orégano en película activa (■), 4% orégano en película activo (●) o con extracto de orégano añadido (▲) almacenada a $1 \pm 1^\circ \text{C}$ bajo iluminación (Camo *et al.*, 2011).

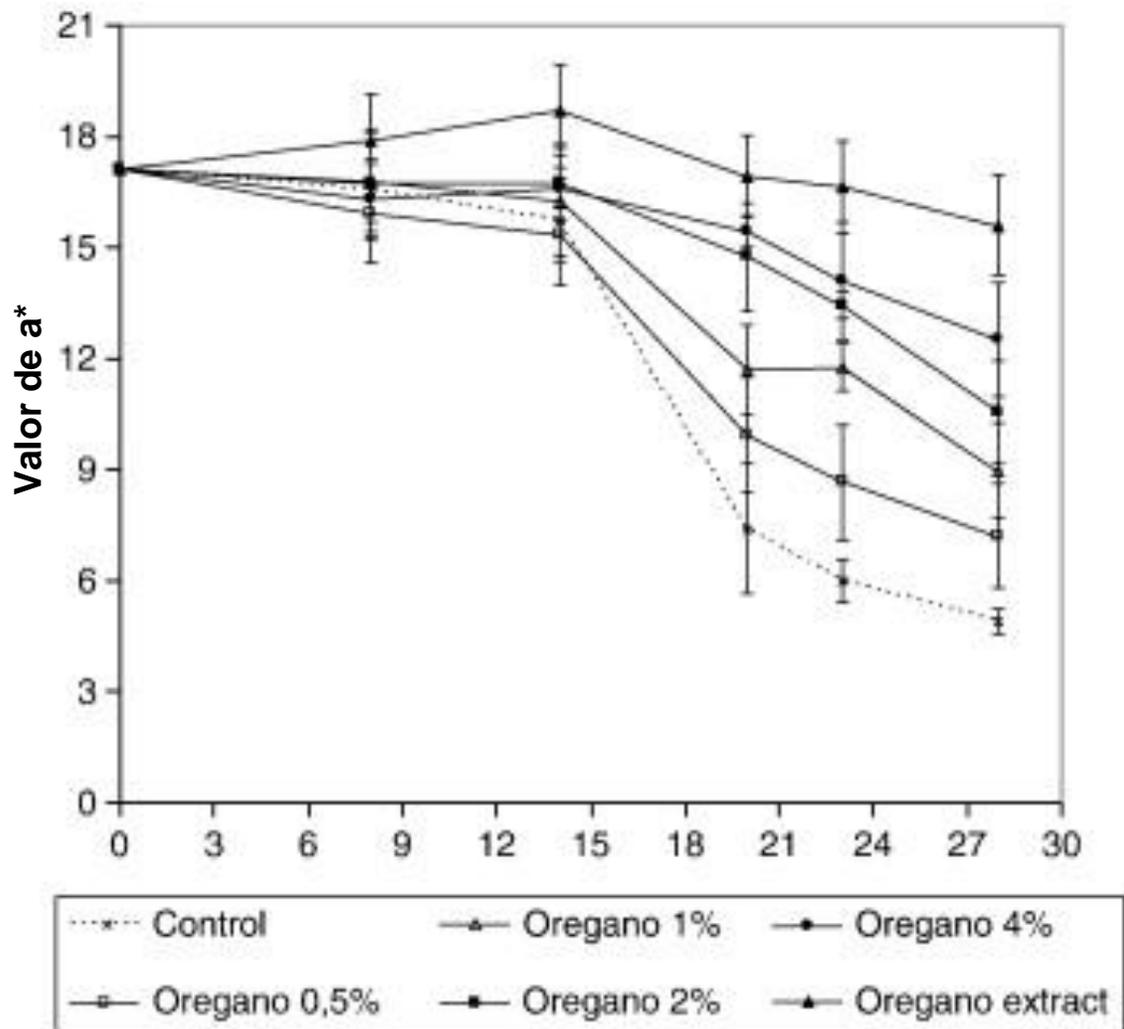


Figura 4. Cambios en CIE a* en filetes de carne empacada en bolsa, control (x), 0.5% orégano en película activa (□), 1% orégano en película activa (Δ), el 2% de orégano en película activa (■), 4% orégano en película activo (●) o con extracto de orégano añadido (▲) almacenada a 1 ± 1 ° C bajo iluminación (Camo *et al.*, 2011).

Textura

La percepción que tiene el consumidor hacia la textura de la carne es crítica y, por lo tanto, para la industria, ya que esto influye directamente en la rentabilidad del sector cárnico (Troy y Kerry, 2010). Para el consumidor existen características sensoriales en la carne que le permitirán adquirir el producto y seguir consumiéndolo, siendo el color, olor, jugosidad y suavidad las cualidades más buscadas por los consumidores (Boylston *et al.*, 2012; Troy y Kerry, 2010). Sin embargo estas cualidades se pueden ver afectadas por factores *ante-mortem* y *post-mortem* que afectan a la fibra muscular y las características del tejido conectivo, teniendo estos un impacto en la suavidad de la carne lo cual se ve reflejado en la calidad de la misma (Boylston *et al.*, 2012; Maltin, *et al.*, 2003).

La dureza en la carne es un atributo percibido por los órganos sensores de la boca antes y después del proceso de masticación. Atributo que es considerado de los más importantes en la carne fresca por el consumidor, la cual se mide en kg/cm² descrita como fuerza al corte (Boylston *et al.*, 2012).

El músculo contiene aproximadamente 75% de humedad, de la cual aproximadamente entre 10-15% se une a las proteínas. 70% de la materia seca es proteína, 10% grasa, 3% carbohidratos y 5% sales. La estructura del músculo está formada por tres capas de tejido conectivo llamadas epimisio, perimisio y endomisio, las cuales le dan forma. El endomisio rodea un conjunto de fascículos. El perimisio rodea a un conjunto de fibras musculares, y estas fibras musculares están formadas por un haz de miofibrillas rodeadas por el endomisio las cuales funcionan como unidad contráctil y están constituidas por los sarcomeros como se muestra en la

Figura 5 (Brewer, 2014; Pearson y Dutson, 1994). Del total de tejido conectivo presente en el músculo, aproximadamente del 0.5 al 1.2% representa el contenido de endomisio, mientras que el perimisio representa de un 0.4 a 4.8% (Kjær, 2004).

La suavidad o ternura de la carne se determina principalmente por dos factores; el primero, la naturaleza y el estado de las proteínas contráctiles. El segundo se refiere al contenido y las propiedades del tejido conectivo, los cuales están relacionados con el estado *pre-mortem* y *pos-mortem* del animal (Pearson y Dutson, 1994; Wu *et al.*, 2008).

Grasa Intramuscular y Tejido Conectivo Impactando en la Suavidad de la Carne

A los depósitos de grasa intramuscular, principalmente presentes en el perimisio entre haces de fibra muscular, se le denomina marmoleo. Estos depósitos hacen que la remodelación de la estructura del tejido conectivo intramuscular (TCIM) reduzca su resistencia mecánica, contribuyendo así al ablandamiento (Figura 5) (Jeremiah *et al.*, 2003; Takanori Nishimura, 2010).

La estructura, la composición y la cantidad de tejido conectivo intramuscular varían entre los músculos, especies y razas. Con el crecimiento animal, los enlaces cruzados de colágeno se vuelven más estables y la integridad estructural

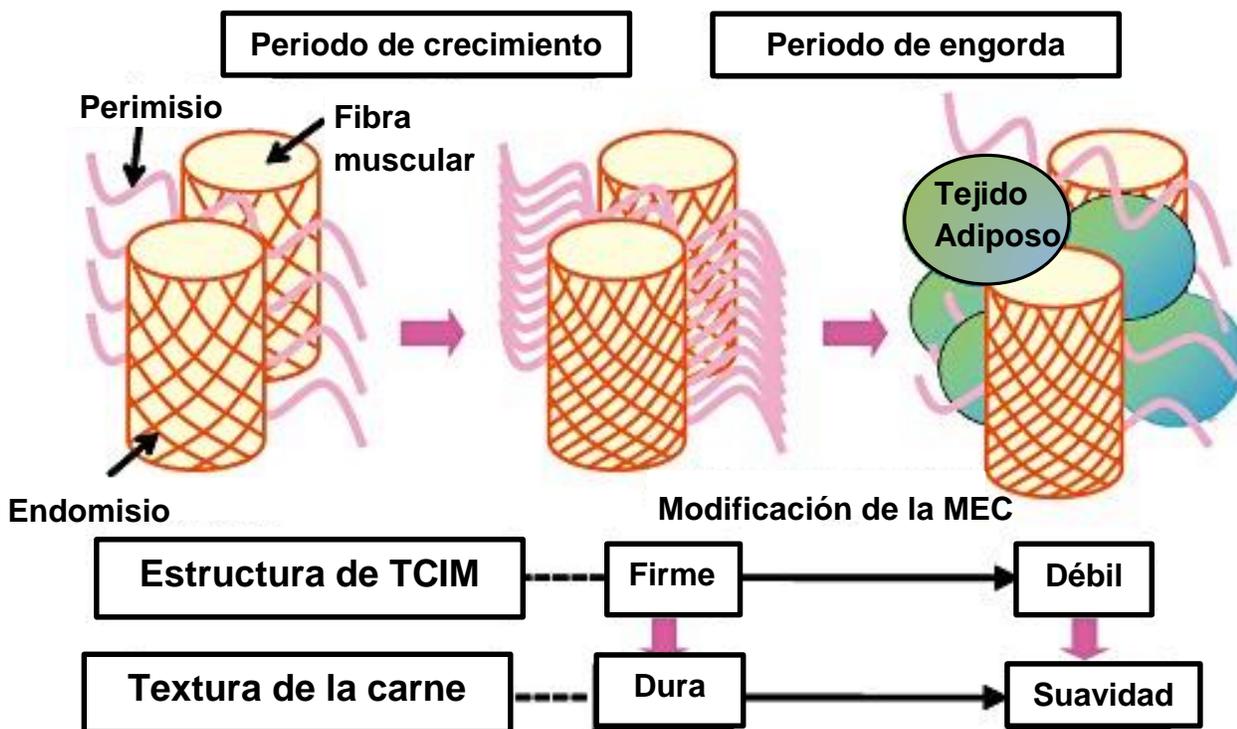


Figura 5. Efecto de la deposición de grasa intramuscular en la estructura del TCIM. Durante el crecimiento del animal los enlaces cruzados de colágeno del perimysio y epimysio se vuelven más estables, contribuyendo al endurecimiento de la carne. Sin embargo, la deposición de grasa intramuscular principalmente en el perimysio la cual resulta en marmoleo. Esto provoca una modificación en la matriz extracelular (MEC), contribuyendo al textura de la carne (Takanori Nishimura, 2010).

del TCIM aumenta. Sin embargo sucede un fenómeno de desnaturalización de proteoglicanos *post-mortem* (Figura 6). Estos cambios aumentan las propiedades mecánicas del TCIM, y esto contribuye al endurecimiento de la carne (Takanori Nishimura, 2010; Velleman, 2012) .

El colágeno, elastina y una matriz de proteoglicanos son los principales componentes del tejido conectivo intramuscular. La concentración total de colágeno en los músculos de carne de bovino puede variar de 1% a 15%, mientras que la elastina en menor proporción (0.6% a 3.7%), estas variaciones se pueden ver influenciadas por la actividad física así como la síntesis de colágeno y enzimas metaloproteasas degradantes aumentando con la actividad física y al igual que las miofibrillas el TCIM se desintegra durante el tiempo de maduración contribuyendo en el ablandamiento de la carne (T Nishimura, 2010; Purslow, 2005).

Existen diferentes tipos de colágeno (I, III, IV, V, VI, XII y XIV) formando parte de la estructura intramuscular (Figura 7). Estos varían en sus proporciones entre las especies animales. El tipo I y III son los principales tipos de formación de fibra en el endomisio, perimisio y epimisio. El tipo IV es el componente principal de la formación no fibrosa de la membrana basal que une la capa fibrosa (reticular) del endomisio a la membrana celular del músculo (sarcolema). El tipo V es el componente de menor presencia aunque en pescados es más abundante (Kjær, 2004; Takanori Nishimura, 2010; Purslow, 2005).

pH Final y Proteólisis *Post-mortem*

La suavidad o terneza de la carne ha sido relacionada con el pH final, pudiendo alcanzar un alta pH ($\text{pH} \geq 6$), un pH normal ($\text{pH} 5.5 - 5.6$) o un baja pH

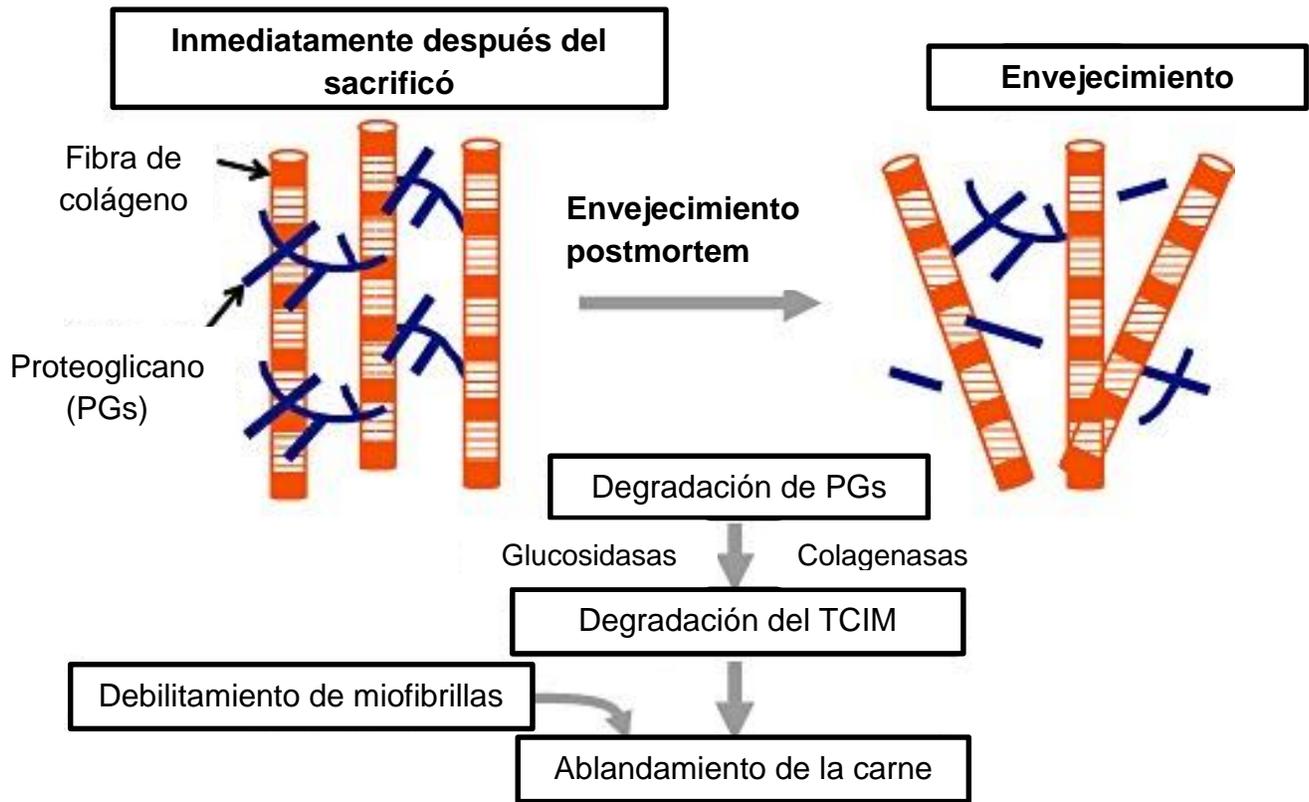


Figura 6. Representación esquemática de los cambios en el tejido conectivo intramuscular durante el envejecimiento post-mortem. En el músculo post-mortem, durante el envejecimiento los proteoglicanos se degradan y el vínculo con las fibras de colágeno se debilitan, esto provoca un cambio estructural en el TCIM lo cual contribuye a la suavidad de la carne (Takanori Nishimura, 2010).

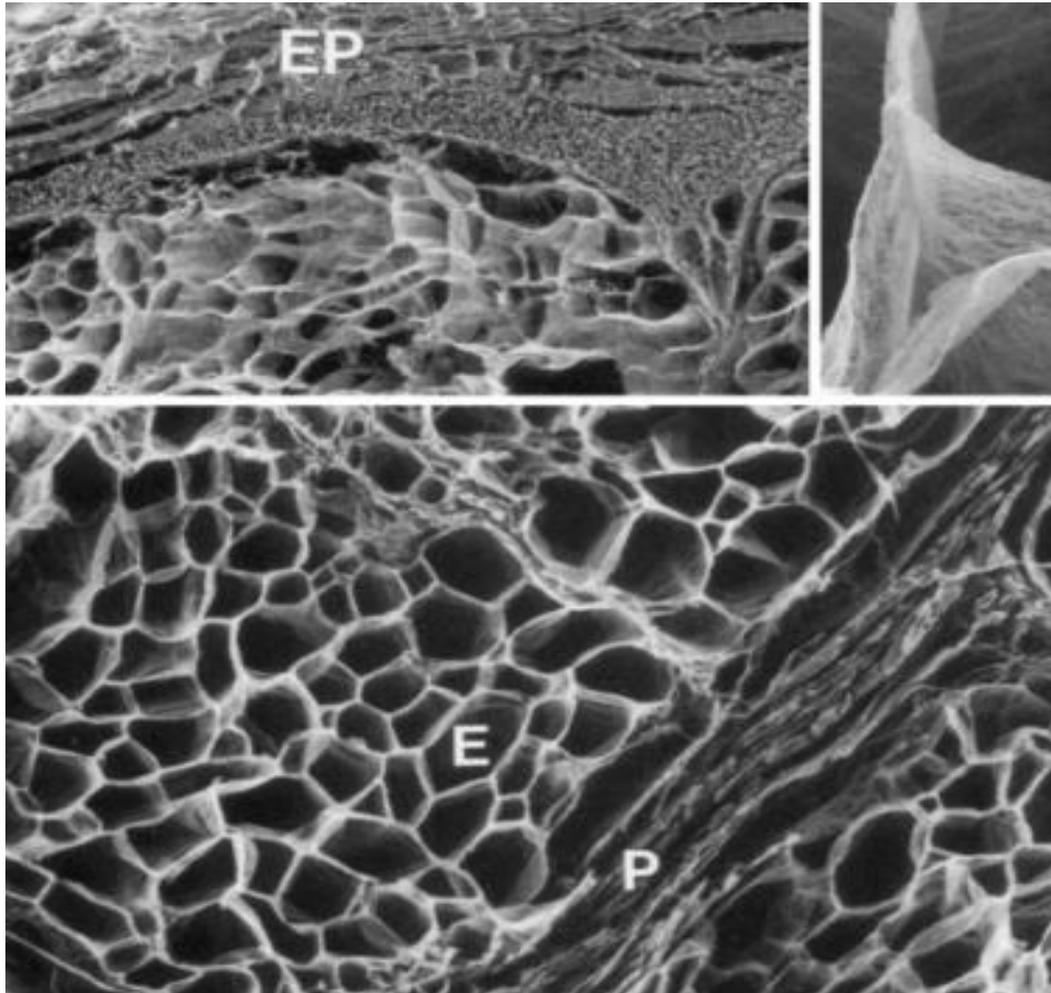


Figura 7. Micrografía electrónica de la estructura del tejido conectivo intramuscular de bovino del M. semitendinoso después de la eliminación de la proteína del músculo esquelético. Arriba a la izquierda muestra el epimisio (EP), y la parte inferior ilustra el perimisio (P), así como el endomisio (E). En la parte superior derecha, se muestra el endomisio que rodea una fibra muscular esquelética individual (T Nishimura, Hattori, y Takahashi, 1994).

(pH \leq 5.6). Además, el ablandamiento de la carne depende de la velocidad de caída del pH y su pH final, esto gracias a la glucólisis anaerobia post-mortem, mediante la acumulación de ácido láctico (Marino *et al.*, 2013; G. Wu, Farouk, Clerens, y Rosenvold, 2014).

Afectando los mecanismos bioquímicos ante-mortem impulsando cambios en el músculo post-mortem mediante la degradación de proteínas por medio de la activación de enzimas proteolíticas (Andújar *et al.*, 2003; Boylston *et al.*, 2012; Pérez *et al.*, 1998; Qi *et al.*, 2012). Por lo tanto el pH final afectara la ternura de la carne debido a que contribuye al debilitamiento de la estructura miofibrilar gracias a la degradación proteolítica de proteínas clave post-mortem (miosina, actina) (Ferguson y Warner, 2008).

Por lo tanto el pH es un factor importante dentro de la proteólisis, ya que este permite la activación y desactivación de ciertas enzimas tales como las calpaínas las cuales se activan en pH neutro y catepsinas que se activan en pH ácidos las cuales son dos sistemas de enzimas que han sido implicadas en la proteólisis post mortem, donde una mayor activación de estas enzimas favorecen a la dureza de la carne (Stolowski *et al.*, 2006). La μ -calpaína y la m-calpain son dos proteasas de cisteína que tienen actividad proteolítica y son responsables del ablandamiento de la carne debido a ciertos procesos post-mortem, por medio de la degradación de algunas proteínas. Las calpains son reguladas por una proteína llamada calpastatina en la cual su activación inhibitoria está condicionada a la presencia del Ca^{+2} (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005; Koohmaraie y Geesink, 2006). La activación de las calpains se da gracias al agotamiento de las bombas iónicas post mortem

(ATP) resultando en la acumulación de Ca^{+2} sarcoplásmico en concentraciones requeridas para activar μ -calpaína (3-50 μM) y m-calpaína (400-800 μM) estas a su vez hidrolizaran las proteínas miofibrilares favoreciendo al ablandamiento de la carne (Andújar *et al.*, 2003; Goll *et al.*, 2003; Melody *et al.*, 2004; Sentandreu *et al.*, 2002).

A parte de la presencia de Ca^{+2} otro factor importante que influye en la activación de las calpains es el pH, el cual debe de ser un pH neutro (7.2 a 8.2) para un mejor funcionamiento. Cuando disminuye el pH, m-calpaína parece estar inactivada, dejando μ -calpaína como responsable del ablandamiento de la carne. Las calpaínas μ - y m- muestran autólisis en presencia de calcio (Goll *et al.*, 2003). Durante los procesos de maduración de la carne existen cambios oxidativos en el músculo los cuales influirán en la terneza, debido a la oxidación de proteínas miofibrilares favoreciendo a la formación de enlaces cruzados, dando como resultado la conversión de algunos aminoácidos incluyendo histidina y algunos derivados de carbonilo, produciendo disulfuro intra e inter-proteína contribuyendo a la formación de un entrecruzamiento de diferentes proteínas estructurales así como la reducción de la actividad de la μ -calpaína. Debido a que las calpaínas contienen histidina y residuos de cisteína que contiene sulfhidrilo en sus sitios activos, se vuelven altamente susceptibles a la inactivación por la oxidación. Por lo tanto, las condiciones oxidantes en el músculo post mortem pueden conducir a la inactivación o la modificación de la actividad calpaína (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005).

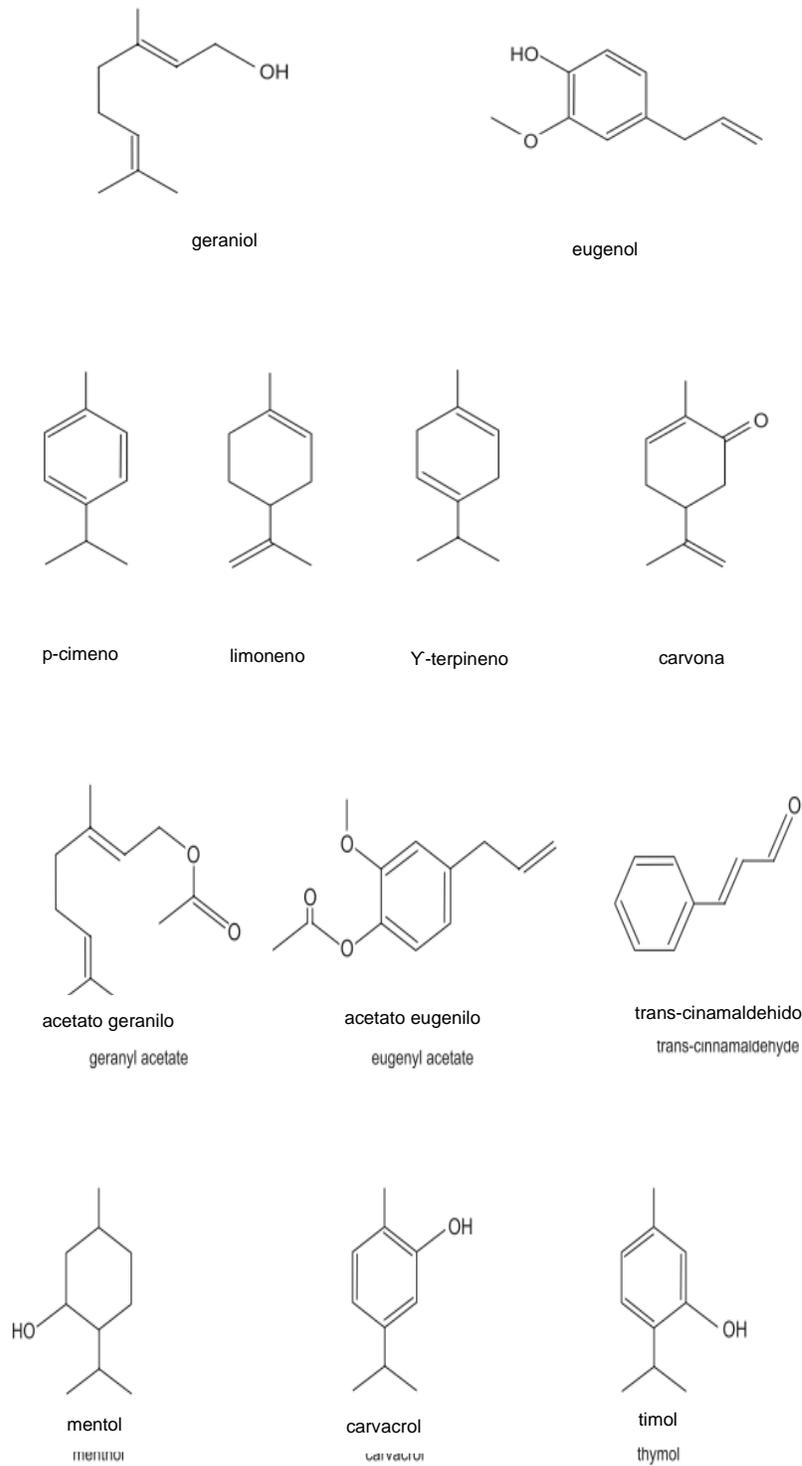


Figura 8 . Estructura química de aceites esenciales presentes en orégano y otras plantas (Jayasena y Jo, 2013).

Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son soluciones líquidas constituidas por un gran número de compuestos, los cuales han sido identificados, y clasificados en; compuestos alifáticos, terpenos acíclicos, terpenos cíclicos, compuestos cicloalifáticos, compuestos aromáticos, fenoles y derivados de fenol, compuestos O-, O, S- y S, S-heterociclos y N-, N, S-heterociclos (Surburg y Panten, 2006).

Algunos investigadores mencionan que aproximadamente el 85% de la composición de los aceites esenciales se les denomina compuestos principales y el 25% restante se les conoce como componentes traza (Surburg y Panten, 2006). En algunos aceites esenciales como del orégano y el tomillo los compuestos fenólicos se encuentran en mayor proporción (Karamanos y Sotiropoulou, 2013). A estos compuestos se les considera como los principales responsables de las propiedades antioxidantes así como antibacterianas de aceites esenciales (Cosentino *et al.*, 1999; Hernández-Hernández, 2009).

Propiedad Antioxidante del Aceite Esencial de Orégano

Las especias juegan un rol muy importante en la dieta del mediterráneo y son usadas como colorantes y como antioxidantes naturales. Algunas de esas especias son el orégano, el romero, salvia, clavo, comino, tomillo las cuales son consideradas plantas con una alta capacidad antioxidante teniendo este efecto en diferentes especies como aves, porcinos, bovinos, ovinos (Camo *et al.*, 2011; Fasseas *et al.*, 2007; Marcinčák *et al.* 2008; Nieto *et al.*, 2013; Simitzis *et al.* 2008; Viuda-Martos *et al.*, 2007).

Un alto porcentaje de la composición del aceite de orégano son compuestos fenólicos entre los principales está el carvacrol y el timol (López y Sánchez, 2007; Viuda-Martos *et al.*, 2007).

La importancia de los compuestos fenólicos radica en que existe una alta relación entre la capacidad total antioxidante y el contenido total de compuestos fenólicos esto quiere decir que entre más cantidad de compuestos fenólicos se encuentren en los extractos mayor será su capacidad antioxidante (Shan, *et al.*, 2005). Aunque los porcentajes de los componentes del aceite de orégano varían (

Cuadro 1), debido a diferentes factores como lo es la temperatura, la humedad, el estado fenológico y la parte de la planta de donde se extrae el aceite esencial (hoja o tallo), aunque siguen siendo los compuestos fenólicos los que predominan en la composición de los aceites de orégano (Karamanos y Sotiropoulou, 2013).

Los efectos antioxidantes del timol o el carvacrol se deben a que estos compuestos fenólicos poseen propiedades redox (reducción-oxidación), lo cual ayuda a la estabilidad de la per-oxidación lipídica y en la inhibición de varias oxidaciones enzimáticas (Chen y Ahn, 1998; Riceo-Evans *et al.*, 1997). Actuando en todas las fases de la peroxidación; como la neutralización de radicales libres, el bloqueo de la catálisis por la peroxidación de hierro, así como de la inhibición de las reacciones en cadena de los radicales lipídicos (Cittera *et al.*, 2000).

Cuadro 1. Aceites esenciales y terpenoides reportados en diferentes especies de orégano

Tipo	Compuesto	Cantidad %	Autor
<i>Origanum vulgare L.</i>	Carvactol	83.1	P.E. Simitzis , S.G. Deligeorgis , J.A. Bizelis, A. Dardamani, I. Theodosiou, K. Fegeros
	Thymol	2.1	
	γ -terpinene	3.97	
	p-cymene	3.79	
	B-caryphyllene	0.93	
<i>Origanum vulgare L.</i>	Thymol	46.84	Marilena Marino, Carla Bersani, Giuseppe Comi
	γ -terpinene	12.88	
	p-cymene	6.64	
	1,8-Cineole	3.79	
	Myrcene	2.8	
	α -Terpinene	2.1	
<i>Oreganum vulgare L.</i>	Carvactol	55.76	I. Karabagias, A. Badeka, M.G. Kontominas
	Thymol	21.89	
	p-cymene	14.97	
	linalool	3.4	
	γ -terpinene	1.44	
	α -Terpinene	0.15	
	1,8-Cineole	0.09	
	Myrcene	0.24	
<i>Oregano vulgare spp. Hirtum</i>	Carvactol	62.27625	Andreas J. Karamanos, Dimitra E.K. Sotiropoulou
	Thymol	0.21	
	p-cymene	4.18875	
	linalol	0.27375	
	γ -terpinene	2.94375	
	α -Terpinene	0.8625	
	Myrcene	1.19625	
	<i>Oreganum syriacum</i>	Carvactol	
Carvone		18.05	
p-cymene		8.05	
Thymol		3.74	
Limonene		3.36	
γ -terpinene		2.35	
linalol		1.51	
<i>Oreganum vulgare</i>	Carvactol	0.43	Afroditi Sivropoulou, Eleni Papanikolaou, Constantina Nikolaou, Stella Kokkini, Thomas
	α -Terpinene	1.53	
	p-cymene	40.15	
	Thymol	31.8	

Cuadro 1. Continuación			Lanaras, Arsenakis	Minas	
<i>Oreganum Hirtum</i>	ssp.	Limonene	4.12		
		γ-terpinene	1.32		
		Myrcene	0.75		
		Carvactol	79.78	Afroditi	Sivropoulou,
		α-Terpinene	0.62	Eleni	Papanikolaou,
		p-cymene	8.76	Constantina	Nikolaou,
		Thymol	2.45	Stella	Kokkini, Thomas
		Limonene	0.14	Lanaras,	Minas
		γ-terpinene	2.07	Arsenakis	
<i>Oreganum dictamnus</i>		Myrcene	0.61		
		Carvactol	62.44	Afroditi	Sivropoulou,
		α-Terpinene	1.88	Eleni	Papanikolaou,
		p-cymene	13.49	Constantina	Nikolaou,
		Thymol	0.44	Stella	Kokkini, Thomas
		Limonene	0.23	Lanaras,	Minas
		γ-terpinene	11.41	Arsenakis	
		Myrcene	1.21		

El carvacrol (2-metil-45-isopropilfenol) es un constituyente fenólico monoteroeno su estructura química está compuesto por un grupo hidroxilo y tres grupos metil (Cho *et al.*, 2012) (Figura 9). Estos compuestos están presentes en aceites esenciales y tiende la característica de ser hidrofóbico (Helander *et al.* 1998; Ultee *et al.*, 2000; Ultee *et al.*, 2002).

Rumensí (monensina sodica)

La monensina sódica (Figura 10) es un derivado del *Streptomyces cinamonensis* y es considerada un ionóforo, un tipo de antibiotico que es usado con más frecuencia en la alimentación de rumiantes para mejorar la eficiencia de la alimentación (Bavera *et al.* , 2002). Aunque el uso de antimicrobianos como promotores del crecimiento en animales destinados al consumo humano ha sido fuertemente criticada en algunos países desarrollados, debido a los temores del incremento de la resistencia de microorganismos a los antibióticos (Bavera *et al.*, 2002), estos aún se utilizan con frecuencia en países como E.U. y México.

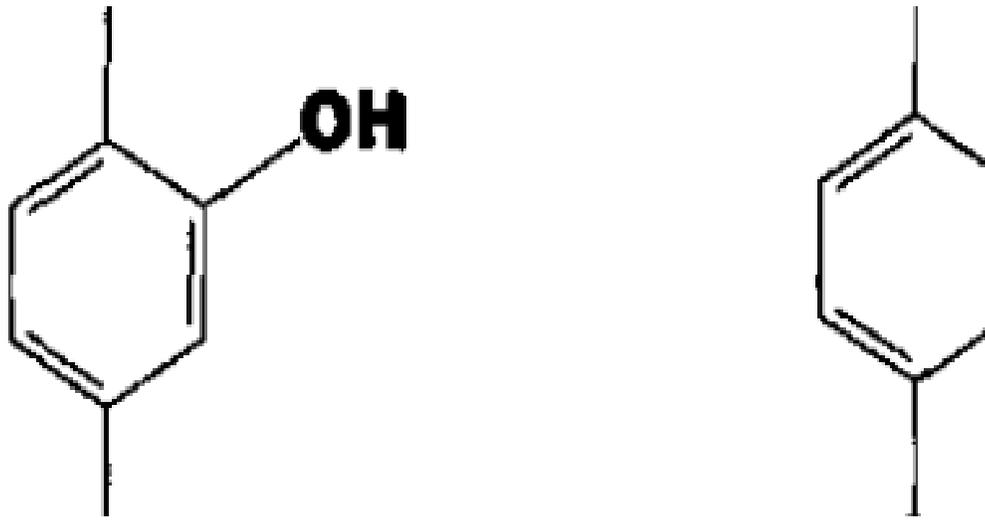


Figura 9. Estructura química del Carvacrol (izquierda) y del Timol (Derecha) (Landbouwcatalogus, 2000).

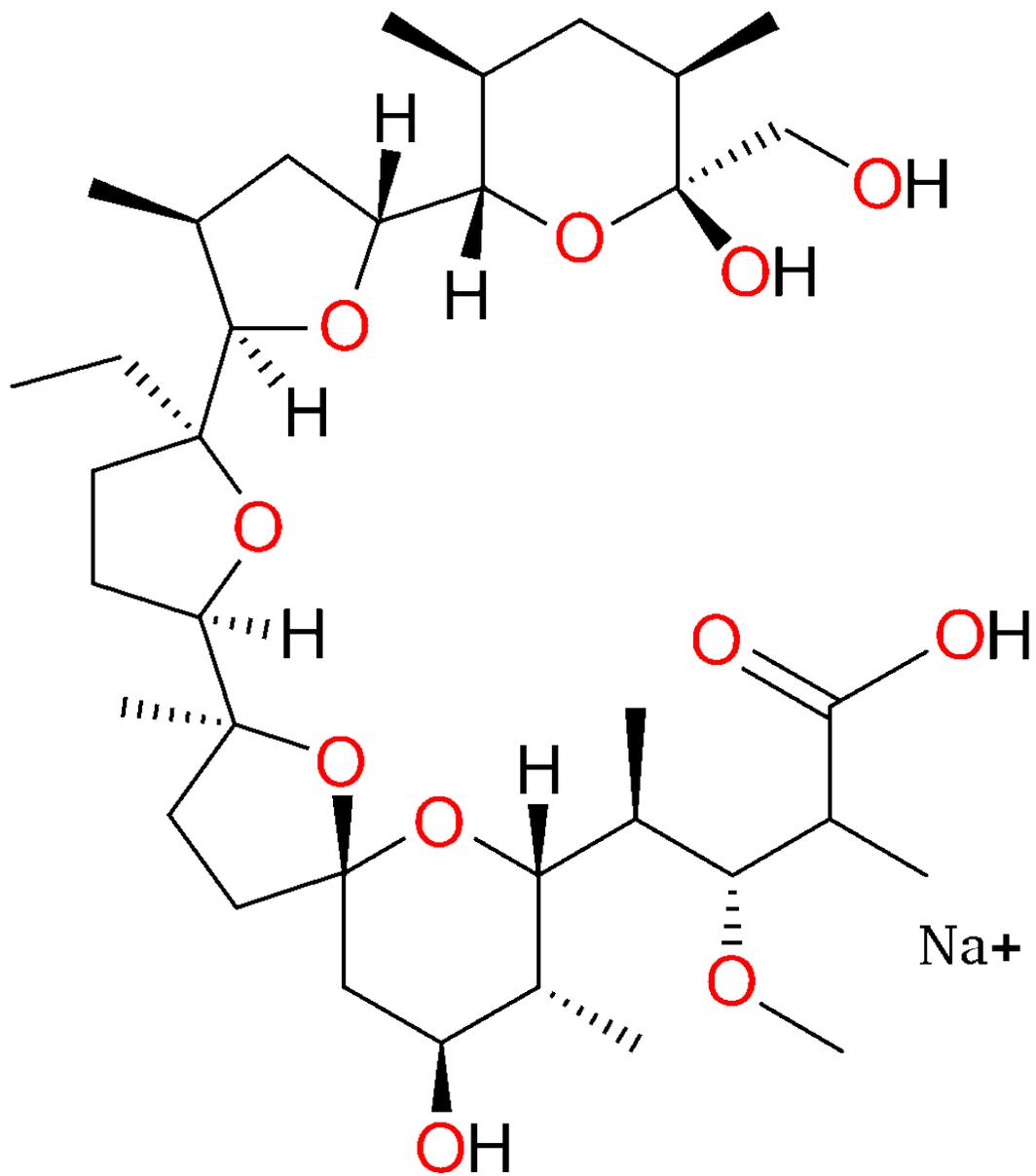


Figura 10. Estructura química de la monensina sódica (Rumensin).

Estos antimicrobianos se dirigen específicamente a modificar la población bacteriana ruminal, alterando la ecología microbiana intestinal, resultando en una mayor retención de nitrógeno y de carbono por el animal. Los ionóforos transportan iones a través de la membrana celular de bacterias susceptibles, disipando los gradientes iónicos y los gastos de energía de desacoplamiento para el crecimiento, matando a estas bacterias (Callaway *et al.*, 2003; Schelling, 1984). No todas las bacterias son susceptibles a ionóforos como *Streptomyces longisporoflavus*, *Streptomyces lividans*, *Prevotella ruminicola*, aunque los mecanismos de resistencia a los ionóforos los cuales aún no están bien definidos (Russell y Houlihan, 2003).

Los principales efectos de la monensina que se reportan sobre el ambiente y metabolismo ruminal, se centran en que el ionóforo incrementa la proporción del ácido propionico y disminuye la proporción del ácido butírico en los fluidos del rumen (Boucqué *et al.*, 1982; Castro-Montoya, *et al.*, 2012; Schelling, 1984; Smith *et al.*, 1980). Esta modificación en la producción de ácidos grasos volátiles, se lleva a cabo mediante la selección de comunidades de microorganismos que producen mayor cantidad de ácido propionico, favoreciendo a la recuperación de energía utilizada por el animal, mediante la reducción de la formación de gases de desecho como el metano y además el ácido láctico producidos por otros microorganismo (Bavera *et al.*, 2002).

Uso de Empaques con Atmósfera Modificada para Carne

El empaqueo en atmosferas modificadas (EAM) es uno de los principales métodos utilizados para aumentar la vida de anaquel de los productos cárnicos. Esta tecnología utiliza la combinación de gases (*i.e.* CO₂, O₂), materiales y

mecanismos y cada vez se buscan nuevas combinaciones y alternativas para aumentar los efectos positivos, enfocándose en mejorar el color, la apariencia y en general la vida de anaquel de alimentos incluyendo la carne. Los cambios y mejoras más notables en el EAM en carnes rojas se enfocan en satisfacer los requerimientos del consumidor principalmente su preferencia por el color rojo brillante del producto, ya que al entrar en contacto con O₂, la mioglobina se oxigena a oximioglobina, promoviéndose al fenómeno conocido como “blooming”, una intensificación del color rojo brillante (Al-Nehlawi *et al.*, 2013; Cooksey, 2014; Narasimha Rao y Sachindra, 2002).

Dióxido de carbono

El dióxido de carbono (CO₂) es considerado un gas con la propiedad de inhibir el crecimiento de una gran cantidad de bacterias aerobias. Este gas puede ser considerado el gas más utilizado en el empaquetado en atmósfera modificada. El CO₂ es fácilmente absorbido por la grasa y el agua, esta propiedad aumenta a bajas temperaturas por lo que su eficiencia es mayor en aquellos productos refrigerados. Sin embargo, la concentración este en EAM no se recomienda que sea en elevados porcentajes para productos que contengan altas cantidades de grasa y agua, ya que la absorción de CO₂ puede afectar la calidad de la carne en términos de sabor y pérdida de humedad o exudado. Esto se debe a la pérdida de la capacidad de retención de agua de las proteínas debido que el CO₂ al ser disuelto da origen a ácido carbónico el cual se descompone con rapidez provocando el descenso del pH del medio, dando origen a la desnaturalización de las proteínas y con esto a la

capacidad de las proteínas de retener agua en los tejidos (Iglesias, *et al.*, 2006; Marcela *et al.*, 2008; McMillin, 2008; Narasimha Rao y Sachindra, 2002).

Oxígeno

El oxígeno es un gas que le da una apariencia fresca a la carne, siempre y cuando esta no se encuentre expuesta directamente al aire o su empaque no sea permeable al oxígeno ya que esto provocará que la carne se torne de un color marrón en la superficie, dándole un aspecto desagradable después de unos días, aun cuando permanezca almacenada a una temperatura cercana a 0°C (McMillin, 2008; TEC, 2001). Este gas inhibe el crecimiento de microorganismos anaerobios, pero favorece al crecimiento de microorganismos aerobios, los cuales promoverán una descomposición temprana de los productos, disminuyendo su vida de anaquel, promoviendo la oxidación y el enranciamiento de grasas (Iglesias *et al.*, 2006; Luño *et al.*, 1998; McMillin, 2008; Narasimha Rao y Sachindra, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Manejo de Animales y Tratamientos

El aceite de orégano fue obtenido del Centro de Investigación Para los Recursos Naturales (CIRENA) de Salaires, Chihuahua, mediante la participación del MC. Ramón Silva Vázquez, investigador participante en el proyecto.

Se usaron 20 corderos de pelo enteros mestizos (Dorper x Pelibuey) con un peso vivo inicial de 17 kg, y con un peso al sacrificio de 26.2 ± 3.9 kg. Tuvieron un proceso de adaptación a la dieta de 15 días. Durante la fase experimental, todos los animales fueron alimentados a libre acceso a las 0800 y 1600 horas. Con una dieta de 20% de forraje y 80% de concentrado (base MS), la cual se formulo para 250 g de ganancia diaria según los requerimientos nutricionales para corderos de 17 kg de peso vivo (NRC, 2006).

Fueron separados en 5 grupos (n=4). A los cuales se les asignó un tratamiento al azar. El aceite de orégano empleado para los tratamientos con oregano contenía 62.7 % de carvacrol en su composición total. Los tratamientos fueron 1) control negativo solo dieta basal (CON) ; 2) control positivo, dieta basal más Rumensin 200® con 33mg/kg (RUM); 3) aceite esencial bajo, dieta basal suplementada con 0.2 g/kg BS (base materia seca) de carvacrol (OB); 4) aceite esencial medio dieta basal suplementada con 0.3 g/kg BS de carvacrol (OM); 5) aceite esencial alto, dieta basal suplementada con 0.4 g/kg BS de carvacrol (OA). Los animales de cada uno de los tratamientos se alojaron en corraletas individuales, provistas de comedero y bebedero.

El sacrificio de los animales se llevó a cabo en la planta piloto de la Facultad. Se tomará la muestra a analizar del músculo *Longissimus lumborum* (LD) a nivel de la 12ª costilla (USDA, 1992).

Análisis de Laboratorio

Los análisis de laboratorio se llevarán a cabo en los laboratorios de Bioquímica y de Nutrición Animal de la Facultad de Zootecnia y Ecología.

Oxidación de Lípidos

Se determinó por el método de TBARS (Thiobarbituric acid reactive substances) se realizó el séptimo día de almacenamiento, se realizó de acuerdo al método de destilación propuesto por Piccini et al. (1986) que consistió en obtener una muestra de carne de 30 g a la cual se le agregó 90 mL de HCL al 10%, posteriormente se licuó para homogenizar y posterior a esto se sometió a destilación, en un destilador (que tipo de destilador marca), hasta obtener 50 mL aproximadamente de destilado, a continuación, se tomó 2.5 mL de destilado, y se agregó 2.5 mL de TBA (ácido tiobarbitúrico, al 0.7%) y se sometió a reacción en baño maría a temperatura de ebullición durante 40 min. Una vez realizada la reacción se realizó la lectura de las muestras a una absorbancia de 535 nm en un espectrofotómetro. Para obtener la cantidad de malonaldehído en microgramos/kilogramos de muestra donde se utilizó la siguiente fórmula:

$$\frac{\mu gMAD}{kgcarne} = Absorbancia - \frac{Y}{X}$$

Donde Y = concentración de tetraetoxipropano y X = densidad óptica leída en nm, en la curva de calibración.

Dureza de la Carne

Se determinó por medio del método de “punch and die”, descrito por Jones *et al.* (1985) La muestra se almacenó en bolsas al vacío durante 7 días después del empaquetado la muestra se coció en baño maría a 80 °C hasta que alcanzan una temperatura interna de 78 °C. La temperatura se midió con un termómetro digital el cual se insertó en el centro de la carne. Una vez cocidos los filetes se enfriaron en agua con hielo, para luego ser almacenados en refrigeración bajo una temperatura controlada de 1 ° C durante 24 h, pasado ese tiempo se procedió a realizar el análisis de texturas el cual se llevó a cabo con un analizador de textura Lloyd instruments®, el cual hace pasar un cilíndrica de acero inoxidable de perforación a través de los filetes, arrojando el valor de la resistencia al corte estos valores serán considerados como el pico máximo de la resistencia. Los datos se expresan en kg/cm^3 (fuerza).

Color

Para la determinación del color en la carne de borrego se siguió la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) con escala de medición LAB por medio de un colorímetro de la marca Konica Minolta ® Modelo CR400 (CIE, 2004)

Este sistema de medición de color se basa en medir longitudes de ondas, los cuales se ven representadas en las siguientes literales L^* , a^* b^* (Figura 11). Donde los valores de L^* representan la luminosidad de la carne que va desde un color blanco al negro teniendo un rango limite donde su valor máximo es 100 y cuyo valor mínimo es 0. En caso contrario los valores de a^* y b^* no tienen limite y pueden ir de números positivos a números negativos (CIE, 2004).

La literal a^* marca en números positivos la tendencia a rojo y en número negativos la tendencia a verde, y por otro lado la literal b^* señala en sus valores positivos la tendencia a amarillo y en valores negativos la tendencia a azul. Las variables a^* y b^* son utilizadas para determinar C^* (Chrome o Saturación) mediante la ecuación $(a^{*2}+b^{*2})^{0.5}$ (CIE, 2004).

Las muestras fueron tomadas del músculo *Longissimus lumborum* (Figura 12) con un peso de aproximadamente 30 gramos las cuales fueron almacenadas individualmente en una atmosfera modificada (75% oxígeno y 25% CO₂) a una temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1$. La medición fue realizada durante 7 d a la misma hora.

Extracción del Perfil de ácidos grasos

Extracción de grasa total. Se usó el método de extracción en frío (Bligh y Dyer 1959), para lo cual se tomó en consideración las experiencias de trabajos anteriores (Gómez 2006) y el trabajo de tesis de Chávez (2008). Para este proceso se hicieron varios ajustes en relación al tamaño de muestra de músculo de pecho obtenido. Trabajando 10 muestras dobles por día hasta terminar con la extracción de las 53 muestras que fueron manejadas de la siguiente manera. El total del tejido muscular se colocó en una tabla para cortar carne y se removió la grasa subcutánea para dejar únicamente el tejido muscular, la muestra se colocó en un pedazo de papel encerado, se machacó con un ablandador de carne, la muestra parcialmente molida fue mezclada entre sí para posteriormente pesar la muestra en la báscula analítica digital.

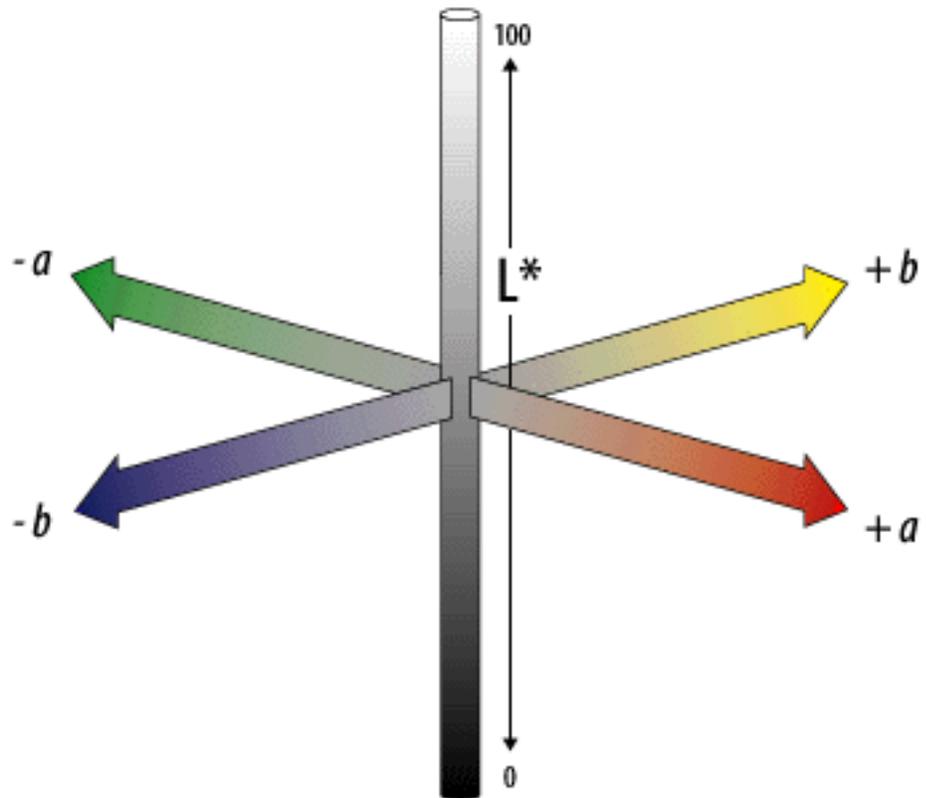


Figura 11. Representación del color en escala CIE L*a*b*. (CIE 2004).

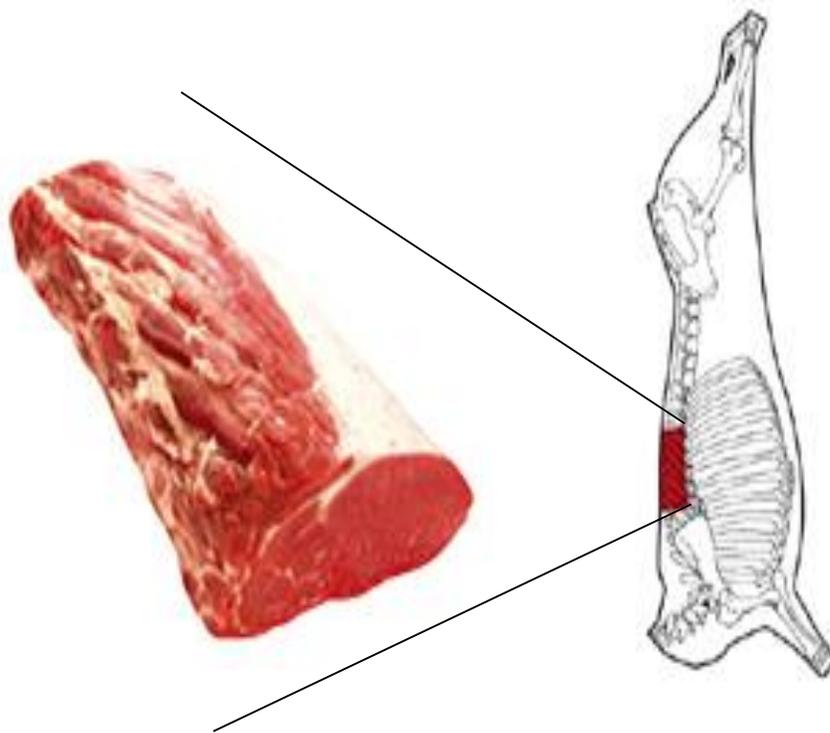


Figura 12. *M. longissimus lumborum*

Cantidad de muestra. En base a la disponibilidad de la misma se pesaron \pm 1g de músculo de pecho para cada una de las dos repeticiones, cada muestra se depositó en un tubo cónico de 40 mL hasta el momento del inicio del proceso de extracción.

Volumen de reactivos. Estos fueron agregados en base al peso exacto de cada muestra, utilizando una micro pipeta de 1000 μ L para medir el volumen de reactivo, en una proporción de 2:1:1 metanol: cloroformo: agua tri-distilada, todos los reactivos agregados fueron los recomendados para cromatografía de gases, de la marca (Sigma-Aldrich, Missouri, USA), una vez agregados los reactivos se introdujo el vástago del homogenizador en el tubo cónico para moler y homogenizar la muestra tal como se describe a continuación.

Homogenización de la muestra. Muestra y reactivos fueron mezclados con un homogenizador eléctrico marca Fisher modelo 133/1281-0, a 1200 rpm, por 2 m, trascurrido ese tiempo se agregó un volumen de cloroformo y se siguió homogenizando por 30 s; trascurrido ese tiempo se retiró el vástago y el tubo con la muestra homogenizada se tapó hasta el momento de filtrarlo.

Filtrado de la muestra. Se llevó a cabo por una técnica de filtración al vacío la cual consistió en poner dentro de un matraz Erlenmeyer el tubo colector que fue conectado a un embudo Büchner, dentro del embudo fue colocado un papel filtro marca Whatman No.1, el cual sirvió como barrera para retener el material homogenizado de partícula grande, el matraz fue conectado a una bomba de succión que al accionarse permitía el paso más eficiente de la mezcla misma que

se recuperó en el tubo cónico previamente lavado e identificado con el número de muestra y su respectiva repetición.

Recuperación y separación de la fracción grasa de la muestra. La muestra recuperada en el tubo por efecto de densidad se separó en dos fases, de las cuales se recuperó la fase inferior que contenía la fracción grasa disuelta en cloroformo, la recuperación de ésta se realizó con una micro pipeta de 1000 μL , a la cual se le colocó una punta nueva de la misma capacidad, la fase inferior fue filtrada a través de un embudo que fue improvisado con una punta nueva para micro pipeta de 1000 μL , a la cual se le insertó una torunda de algodón usada como barrera para agregar en el embolo o cavidad sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) que sirvió para filtrar la fase lipídica y el cloroformo (CHCl_3), la muestra grasa obtenida fue filtrada directamente a un matraz vacío a peso constante.

Estabilización de los lípidos. La muestra contenida en el matraz, fue estabilizada, al agregar 10 μL de BHT (2-6-di tert-butyl-4-methylphenol o butilhidroxitolueno) al 1%. Para prevenir la oxidación de los lípidos durante la manipulación de las muestras.

Derivatización de ácidos grasos. Este proceso incluye varios pasos que están relacionados con; recuperación, saponificación, metilación, esterificación y obtención del perfil de ácidos grasos.

Recuperación de grasa. A los matraces con la muestra se les agregó 5 mL de CHCl_3 para enjuagar el matraz y de esta manera recuperar la grasa, la mezcla

se concentró nuevamente en un tubo cónico de 45 mL el cual fue tapado y guardado hasta el momento de saponificar la grasa (15 min).

Saponificación y Metilación. Con base a la cantidad de grasa extraída se agregó a cada muestra 4mL de Metóxido de Sodio (CH_3NaO) al 0.5 N. Posteriormente, la muestra fue hervida a 90°C por 2 min que fueron cronometrados a partir de que la mezcla comenzó a hervir, al término de este tiempo las muestras se colocaron en agua a temperatura ambiente, una vez enfriada, cada tubo se destapó para aplicarle gas nitrógeno (N_2) para desplazar el oxígeno que pudiera estar presente en el tubo y con esto evitar la oxidación de la muestra. Para hervir las muestras se usó como fuente de calor un baño maría calibrado a 90°C , donde el agua del baño fue sustituida por aceite mineral, lo anterior, con el propósito de evitar que de vapor de agua afectara la esterificación ya que los tubos con la muestra fueron colocados dentro del baño sin tapadera, en una rejilla como equipo de soporte para cada tubo.

Adición de Trifloruro de Boro BF_3 . Una vez enfriada la muestra se agregó 5 mL de BF_3 , (Sigma Aldrich Missouri, USA) a cada tubo al que nuevamente se colocó dentro del baño maría para hervir la muestra por 3 min, pasado ese tiempo las muestras se colocaron en una gradilla y se le agregó a cada muestra un volumen de 5 mL de N-heptano (C_7H_{16}) grado HPLC 98.0 % (Fisher Scientific New Jersey, USA), en esta etapa fue posible observar la formación de una masa densa cristalina en cada una de las muestras, mismas que fueron enfriadas en una gradilla a temperatura ambiente, para posteriormente agregar una solución alcalina.

Solución Saturada de Cloruro de Sodio (NaCl). Una vez que la muestra alcanzó la temperatura ambiente los tubos que contenían las muestras fueron destapados para agregar 5 mL de una solución saturada de sodio, el tubo cónico, nuevamente se tapó para agitar la muestra vigorosamente por 30 seg en el mismo tubo se esperó a que la muestra se separara en tres fases cada muestra se vertió en un embudo de separación del cual se decantaron las dos fases inferiores, reservando únicamente la fase superior que contenía los ácidos grasos disueltos en N-heptano y agua, una vez obtenida esa fase la muestra fue pasada a través de un filtro formado por papel filtro Wattman No. 1 que fue colocado dentro de un embudo, sobre el papel filtro se colocaron ± 2 g de sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) esto para evitar que alguna molécula de agua pudiera quedar adherida al extracto final. Las muestras filtradas se recuperaron en un matraz aforado a 10 mL, el producto graso derivado obtenido, se colocó en un vial color ámbar de 12 mL, identificado con los números de muestra y repetición, a cada vial le fue aplicado gas nitrógeno para remover el oxígeno y una vez realizado esto la muestra fue inmediatamente tapada, sellada y guardada a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ hasta el momento de la inyección.

Análisis del perfil de ácidos grasos. Este análisis se llevó a cabo utilizando el equipo de cromatografía de gases, ubicado en el laboratorio de nutrición animal, de la Facultad de Zootecnia y Ecología. El estándar utilizado fue el Supelco™ 37 Component FAME Mix (Sigma, Bellfonte, PA). La columna utilizada fue una columna polar con las siguientes especificaciones de manufactura (0.25 mm diámetro interno x 100 m de longitud con un grosor de $0.20\text{ }\mu\text{m}$), utilizada para la separación e identificación de los ácidos grasos presentes en cada muestra, para cada inyección

se utilizó como vehículo gas helio (He_2) grado cromatográfico a una velocidad de 20 cm/seg.

Programación del cromatógrafo gases-masas. Esta consistió en una temperatura inicial de 120 °C/2 min y una rampa de 10 °C/min, hasta alcanzar una temperatura de 220 °C/3 min donde se sostuvo por 18 min. La temperatura del puerto de inyección y el detector se conservó a 250 °C.

Inyección de la muestra. Se utilizó una jeringa Hamilton con una capacidad de 10 μL graduada a 0.1 μL . Los pasos previos a la inyección consistieron en enjuagar tres veces la jeringa con C_7H_{16} , posteriormente a eso, se tomó con la jeringa una pequeña muestra de N-heptano y se inyectó en el cromatógrafo lo anterior para verificar que este reactivo estuviera en las condiciones de pureza requeridas para la inyección y lectura de ácidos grasos. Inmediatamente después, cada una de las muestras fue inyectada con la siguiente rutina de trabajo previo a la inyección de cada muestra la jeringa se enjuagó tres veces con la muestra y a la cuarta vez se tomaron aproximadamente 1 μL de muestra y se depositó en el puerto de inyección.

Análisis de Datos

El análisis estadístico de las variables medidas una sola vez en el tiempo se llevó a cabo con un modelo general lineal, con un arreglo lineal, con cada dieta como tratamiento independiente.

La variable de color, la cual se mide a través del tiempo se ajustó a un modelo mixto, considerando el día de anaquel como variable aleatoria.

Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS 9.1.3.
(2006) con la prueba de Tukey para la comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Oxidación de la Carne de Borrego

En el Cuadro 2 se presentan las medias de los diferentes tratamientos sobre las concentraciones de MDA en la carne de borrego. Se puede observar que no existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos ($P=0.284$). Sin embargo, se observa una clara tendencia numérica, en la que la carne de los borregos que fueron alimentados con aceite alto (AA) resultó ser la carne con una mayor formación de malonaldehidos (MDA) (11.504 ± 1.247 mg MDA/kg) y los animales que fueron alimentados con Rumensin fue la carne que presentó una menor formación de MDA (7.932 ± 1.247 mg MDA/kg) en comparación con los demás tratamientos. Quizá una N mayor, pudiera apoyar esta suposición y generar una diferencia estadística.

La oxidación de productos orgánicos son procesos bioquímicos inevitables. Sin embargo existen condiciones y aditivos que ayudan a retardar esa oxidación a su vez existen factores que aceleran la oxidación y modifican la estructura y aspecto de los alimentos provocando cambios en la coloración así como sabores, olores indeseables y cambios en la textura (Brewer, 2011; Sun y Holley, 2012; Ullery y Marnett, 2012).

A la oxidación de lípidos se le conoce como per-oxidación lo cual puede surgir por la acción de radicales libres, originados principalmente por dos vías. La auto-oxidación y por reacciones enzimáticas (Gerhad, 2006). La auto-oxidación afecta principalmente las grasas mono-insaturadas y poli-insaturadas, debido a una reacción en cadena de radicales libres. Teniendo una fuerte relación a la cantidad

de dobles enlaces en la estructura de los ácidos grasos, acelerando la velocidad de oxidación a mayor cantidad de dobles enlaces (Sun y Holley, 2012).

La estabilidad oxidativa en carne se debe a factores múltiples. Existen factores intrínsecos del animal que pueden promover la estabilidad, tales como; raza, sexo y edad. Los cuales están relacionados con la tasa de magro/grasa, grasa total en el animal, perfil de ácidos grasos, específicamente el porcentaje de ácidos grasos saturados, entre otros (Baron y Andersen, 2002; Kim *et al.*, 2002; Min *et al.*, 2008; Rhee *et al.*, 1996). Pero al mismo tiempo, factores extrínsecos pueden potencializar o modificar dicha estabilidad. Todo aquel factor que comprometa la integridad fisicoquímica del tejido, es un potencial promotor de la oxidación. Pero además, todo aquel factor que incremente la producción de radicales libres o la susceptibilidad química a la oxidación, representará un peligro potencial para la estabilidad química. Esto incluye factores *pre-* y *post-mortem*, tales como: alimentación, estrés, manejo en el sacrificio, manejo de la canal, almacenamiento de la carne, empaque, exposición al oxígeno, etc. (Baron y Andersen, 2002; Min *et al.*, 2008; Rhee *et al.*, 1996).

Cuadro 2. Medias de valores TBARS (*Thiobarbituric acid reactive substances*, mg MDA/kg de carne) en *Longissimus lumborum* de ovinos con diferente nivel de suplementación de aceite esencial de orégano (nivel alto = 0.4 g/kg BS; nivel medio = 0.3 g/kg BS; nivel bajo = 0.2 g/kg BS) o el ionóforo rumensin® (P=0.284).

TRATAMIENTO	MEDIA	E.E.
Control	9.092	1.25
Nivel alto	11.504	1.25
Nivel medio	8.253	1.25
Nivel bajo	8.17	1.25
Rumensin	7.932	1.25

En este estudio, la falta de diferencias también pudo deberse a que las concentraciones de aceites esenciales que utilizamos fueron bajas. Ya que en otras especies se ha reportado que concentraciones menores a 1ml/kg de aceite de orégano en la dieta de cerdos no contribuye a disminuir la oxidación en carne (Janz *et al.*, 2007; Simitzis *et al.*, 2010).

Investigaciones mencionan que la adición de aceite de orégano en la dieta no modifica la concentración de ácidos grasos volátiles en el rumen y por lo tanto no presenta ningún efecto sobre la deposición de grasa en la canal (Chaves *et al.*, 2008). Sin embargo existen otras investigaciones que demuestran lo contrario que la adición Carvacrol en la dieta modifica el contenido de Acidos Grasos Volatiles (AGV) en el rumen disminuyendo la producción de ácido propionico e incrementa los niveles de ácido acético, el cual favorece el aumento en la deposición de grasa especialmente de ácidos grasos insaturados (Cardozo, Calsamiglia, Ferret, & Kamel, 2005; Chaves *et al.*, 2008; Hashemipour, Khaksar, Rubio, Veldkamp, & van Krimpen, 2015).

La adición de Rumensin en la dieta favorece la producción de ácido propionico en el rumen (Castillejos *et al.*, 2006). Se puede asumir que posiblemente no existió efecto significativo, debido a que las concentraciones de aceite de orégano en la dieta eran demasiado bajas para afectar concentraciones de MDA. Sin embargo, las diferencias que se presentan en la formación menor de MDA en la carne de rumensin, pudo deberse al efecto del ionóforo sobre las bacterias del rumen. Las cuales son responsables de las concentraciones de los AGV en el rumen. Podríamos hipotetizar que el rumensin juega un papel importante en el

incremento de concentraciones de ácido propionico y ácido acético dentro del rumen. Dando como consecuencia la disminución de ácido acético. En caso contrario la suplementación con aceite de orégano favorece el aumento de ácido acético y disminuye el propionico dando como resultado la deposición de más ácidos grasos y por lo tanto ayudando a la formación de una mayor cantidad de MDA por el alto contenido de ácidos grasos insaturados y poli-insaturados.

Alternativamente, se hipotetiza que algunos de los componentes químicos de los aceites esenciales administrados en la dieta de los animales, pudieran haber sido modificados y absorbidos a nivel intestinal, originando cambios en los mismos perfiles lipídicos de la carne y en condiciones ideales, presentar diferencias en la oxidación de lípidos entre tratamientos. Ya que como lo reportan *et al.*, 2015), al suplementar aceites directamente a la dieta de rumiantes, puede observarse un cambio en el perfil de ácidos grasos de la carne. Esto puede ser sustentado con las diferencias en el perfil de ácidos grasos entre tratamientos que se describen más adelante en la sección correspondiente.

Textura

En el Cuadro 3 se presentan las medias de los diferentes tratamientos sobre la textura (fuerza de corte) en la carne de borrego. Se puede observar que existe una diferencia significativa de textura de los diferentes tratamientos ($P=0.0297$). La carne de los borregos que fueron alimentados con OM resultó ser la carne con una menor resistencia al corte ($12.51 \pm 1.13 \text{kg/cm}^3$) y la carne CON fue la carne que presentó una mayor resistencia siendo una carne más dura ($17.98 \pm 1.32 \text{kg/cm}^3$) en comparación con los demás tratamientos.

Existen múltiples factores que pueden afectar la textura de la carne. Identificándose como los de mayor influencia, el contenido de colágeno, longitud del sarcomero, contenido de grasa y la proteólisis (Wheeler *et al.*, 2000). La disminución del pH *postmortem* dentro de las primeras 6 h después de desangrado influirán en la activación de la μ -calpaína y de su autólisis lo cual puede desempeñar un papel fundamental en la regulación de la proteólisis *postmortem* temprana y en última instancia la pérdida por goteo y en el ablandamiento *postmortem* (Melody *et al.*, 2004). Por esto, la oxidación de proteínas miofibrilares tiene un impacto negativo en la dureza de la carne. Debido a que durante ella se lleva a cabo la formación de enlaces cruzados, formados a partir de la transformación de algunos aminoácidos como la histidina y algunos derivados de carbonilo. Los cuales producen disulfurointra e inter-proteína, a la vez que puede llegar a afectar la estructura química de las calpains y disminuir por lo tanto su función (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005).

Cuadro 3. Fuerza de corte (kgf \pm E.E.) en músculo *L. lumbrorum* de ovinos suplementados con Rumensin® o con tres diferentes niveles de aceites esenciales de orégano (Nivel alto = 0.4 g/kg BS; nivel medio = 0.3 g/kg BS; nivel bajo = 0.2 g/kg BS)

Tratamiento	kg fuerza de corte	E.E.
Control	17.98 ^a	1.32
Rumensin	14.75 ^{ab}	1.42
Nivel bajo	13.15 ^{ab}	1.32
Nivel alto	13.11 ^{ab}	1.18
Nivel medio	12.51 ^b	1.13

^{ab} Diferentes literales indican diferencia significativa entre tratamientos (P =0.029).

La adición de aceite esencial de orégano en la dieta disminuye la producción de ácido acético en el rumen y por otro lado incrementa los niveles de ácido propiónico, esto favorece el aumento en la deposición de grasa (Castillejos *et al.*, 2006). Al mismo tiempo, algunos estudios demuestran que una alta cantidad de grasa en carne disminuye el tiempo de descenso de la temperatura, aumenta la actividad de las enzimas autolíticas en el músculo, además contribuye a la disminución del grado de acortamiento miofibrilar y por lo tanto aumenta la suavidad de la carne (Lopez-Carlos *et al.*, 2011). Aunque otras investigaciones mencionan que la adición de aceite de orégano no modifica la concentración de ácidos grasos volátiles en el rumen y por lo tanto no presenta ningún efecto sobre la deposición de grasa en la canal (Chaves *et al.*, 2008). En el presente estudio, se puede asumir que las diferencias de suavidad que se presentan en la carne del grupo control en comparación con la carne del grupo nivel medio, pudieron deberse a la deposición de grasa intramuscular. Aparentemente, el nivel medio de aceites esenciales en la dieta, promovió una mayor cantidad de ácidos grasos mono- y polii-nsaturados en la carne, los cuales tiene una textura más oleosa que los saturados.

Se puede puntualizar que, aunque no se evaluó el marmoleo en los músculos, la cantidad de grasa total en músculos del tratamiento OM, también fue mayor (se determinó por recuperación en el cromatograma). Por lo que se asume que dicha característica pudo ayudar a la fuerza de corte menor. Ya que como lo reportan Takanori Nishimura (2010), la cantidad de grasa en el L. dorsi y su composición, pueden influir en la suavidad de dicha carne.

Color Durante la Vida de Anaquel

El color del m. *Longissimus* durante la vida de anaquel fue afectado por el tratamiento y por el día ($P < 0.001$). Como se esperaba, el día de exposición en anaquel afectó negativamente tres coordenadas cromáticas; a^* , b^* y C^* ($P < 0.05$). A mayor día de exposición a altas concentraciones de O_2 en el empaque en atmósfera modificada, la carne perdió color rojo, amarillo y la saturación total.

En relación a la tendencia al rojo (a^*), todos los tratamientos de suplemento en la dieta fueron diferentes con respecto al control ($P < 0.001$), a excepción del tratamiento del aceite en altas concentraciones (A aceite, $P = 0.22$). Los tratamientos de rumensin y aceite bajo, resultaron con los valores más altos durante la vida de anaquel (Gráfica 1, $P < 0.001$).

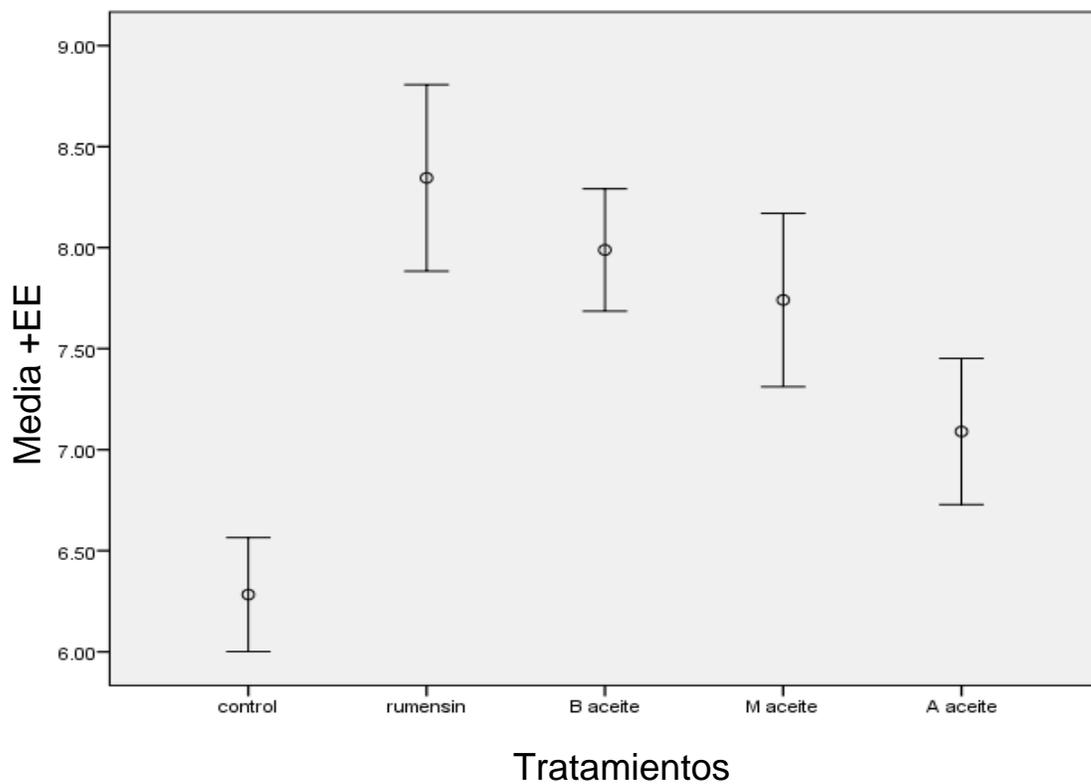
La tendencia al amarillo (b^*), tuvo efecto de tratamiento dietético ($P < 0.001$). Los tratamientos de rumensin, aceite medio y aceite bajo, fueron los de valores más altos de b^* durante toda la vida de anaquel, con relación al control y el aceite alto (Gráfica 2).

Con la misma tendencia que las coordenadas anteriores, el Cromo (C^*) resultó con efecto de tratamiento ($P < 0.001$). Los tratamientos de rumensin, aceite medio y bajo, fueron los de mayores valores. El control fue similar solamente al tratamiento de aceite alto ($P = 0.03$, Gráfica 3).

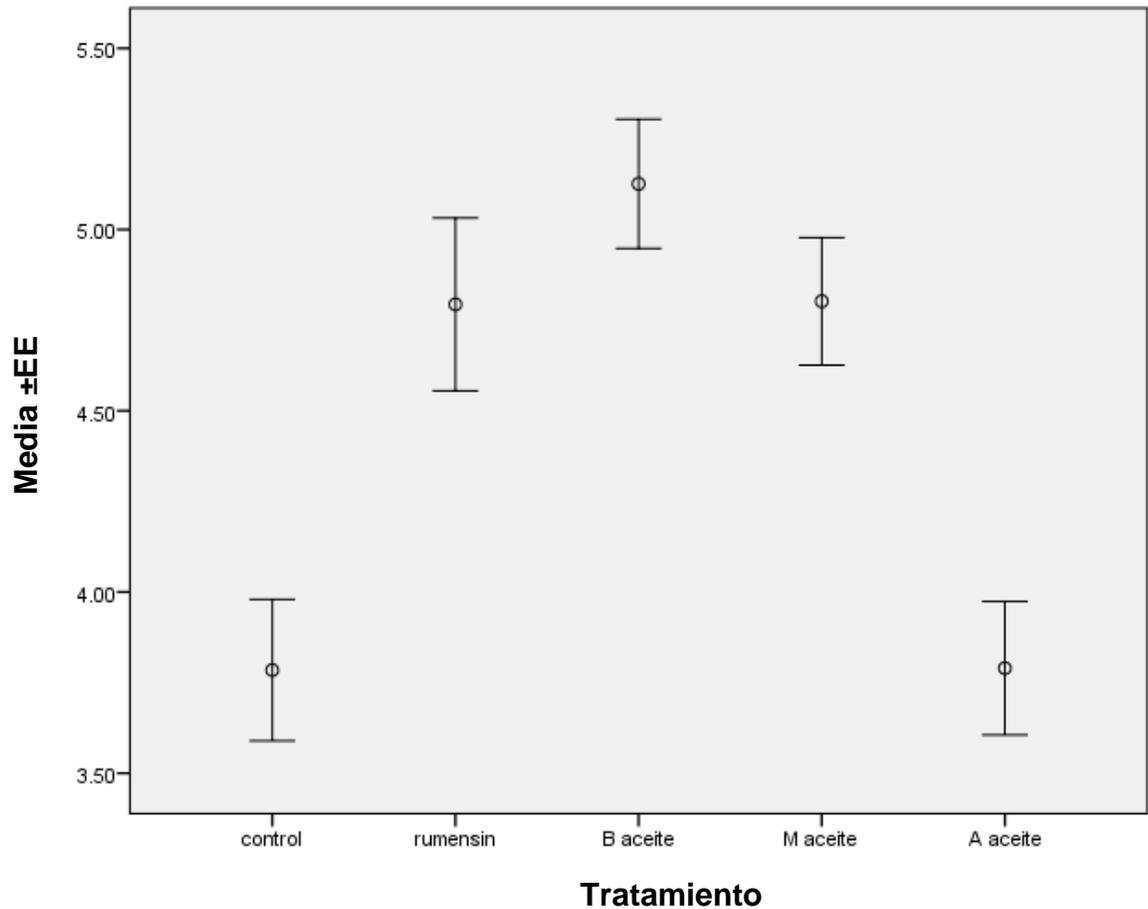
Por lo anterior, se puede establecer que la adición de Timol-Carvacrol en la dieta de ovinos a dosis de 0.2-0.3 g/kg BS y de rumensin a dosis comercial, reducen la caída de color en la carne de estos animales, después de siete días en simulación

de anaquel. Existen reportes del poder antioxidante de dichos aceites esenciales (Boroski *et al.*, 2012; Hashemipour *et al.*, 2015; Hernández-Hernández, 2009). Posiblemente, dichos aceites esenciales fueron depositados en la carne del ovino, como resultado de su ingesta. Al respecto, se ha demostrado que en especies no-rumiantes, esto puede ser posible (Ramos *et al.*, 2017). Lo que conllevaría a una protección del pigmento de la carne contra la oxidación por la exposición en anaquel.

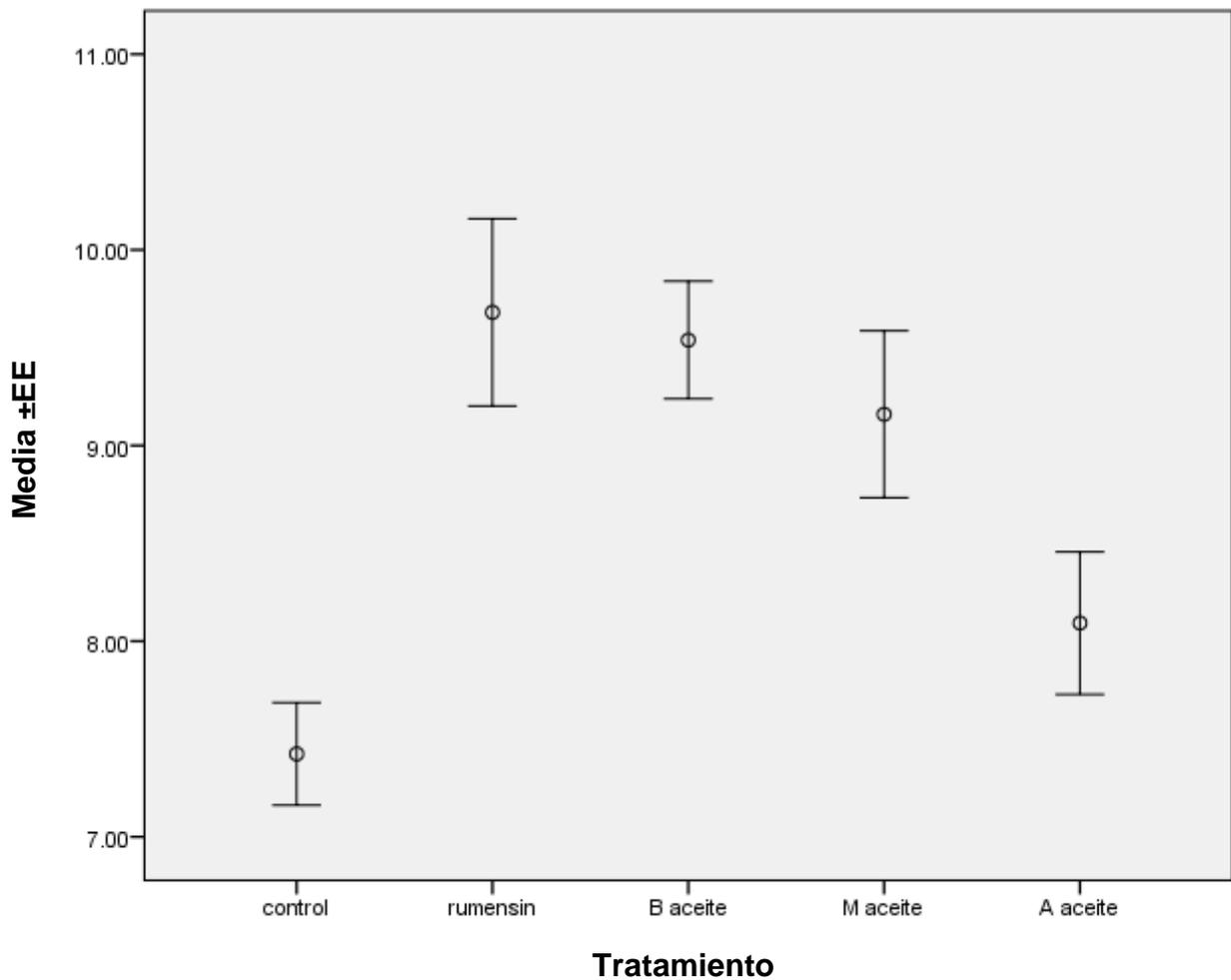
Alternativamente, el color pudo ser mantenido por más tiempo, debido al efecto que tienen timol y carvacrol, promoviendo las actividades del complejo enzimático glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa (Hashemipour *et al.*, 2013). Aunque en rumiantes glutatión peroxidasa no tiene un efecto de importancia, superóxido dismutasa pudo haber tenido un papel importante en la protección de la mioglobina durante la vida de anaquel.



Gráfica 1. Media (\pm E.E.) del valor a^* (tendencia al rojo) en músculo *L. lumbrorum* de ovinos suplementados con Rumensin® o con tres diferentes niveles de aceites esenciales de orégano (A aceite= nivel alto, 0.4 g/kg BS; M aceite= nivel medio, 0.3 g/kg BS; B aceite= nivel bajo, 0.2 g/kg BS), durante siete días en simulación en anaquel con empaque en atmósferas modificadas (O₂:CO₂, 75:25%).



Gráfica 2. Media (\pm E.E.) del valor b^* (tendencia al amarillo) en músculo *L. lumbrorum* de ovinos suplementados con Rumensin® o con tres diferentes niveles de aceites esenciales de orégano (A aceite= nivel alto, 0.4 g/kg BS; M aceite= nivel medio, 0.3 g/kg BS; B aceite= nivel bajo, 0.2 g/kg BS), durante siete días en simulación en anaquel con empaque en atmósferas modificadas ($O_2:CO_2$, 75:25%).



Gráfica 3. Media (\pm E.E.) del valor C* (Saturación) en músculo *L. lumbrorum* de ovinos suplementados con Rumensin® o con tres diferentes niveles de aceites esenciales de orégano (A aceite= nivel alto, 0.4 g/kg BS; M aceite= nivel medio, 0.3 g/kg BS; B aceite= nivel bajo, 0.2 g/kg BS), durante siete días en simulación en anaquel con empaque en atmósferas modificadas (O₂:CO₂, 75:25%)

Perfil de Ácidos Grasos en Grasa Total de la Carne

En general, el tratamiento tuvo efecto sobre el perfil de ácidos grasos ($P > 0.05$). Se analizaron 16 ácidos grasos presentes en carne de ovino (Cuadro 4). Se observaron diferencias ($P < 0.05$) entre tratamientos de manera individual en ácidos grasos, las cuales serán descritas y discutidas a continuación. Los ácidos grasos sin diferencias no serán discutidos en la presente tesis, solamente será reportado sus porcentajes del total de ácidos grasos. El tratamiento tuvo un efecto sobre el porcentaje de dos ácidos grasos ($C_{16:1n^7}$ y $C_{20:1n^9}$, ver Cuadro 4), además sobre los mg/kg de tejido de ocho diferentes ácidos grasos descritos a continuación.

Ácidos Grasos Saturados, C:14, C:16 y C18

Los ácidos grasos saturados C14, C16 y C18, presentaron diferencia por efecto de tratamiento. En los tres casos, el nivel alto de aceites esenciales de orégano, disminuyó la concentración de estos. Mientras que el nivel medio de los aceites en la dieta, incrementó ($P < 0,05$) la cantidad de los mismos ácidos grasos saturados. El nivel bajo de aceites o rumensin en la dieta, no modificó las concentraciones de estos ácidos, con respecto al control ($P > 0.05$).

Cuadro 4. Porcentaje de ácidos grasos contenidos en grasa total de *Longissimus lumborum* de ovinos con diferente nivel de suplementación en la dieta de aceites esenciales de orégano (Aceite alto = 0.4 g/kg BS; aceite medio = 0.3 g/kg BS; aceite bajo = 0.2 g/kg BS) o rumensin®

Ácido graso	%					P
	Control	Rumensin	Alto	Medio	Bajo	
C14:0	1.95	1.68	1.99	2.00	1.78	0.6
C14:1n ⁵	0.11	0.10	0.09	0.10	0.10	0.99
C16:0	25.00	23.69	23.26	25.64	25.07	0.49
C16:1n ⁷	1.00 ^{ab}	1.35 ^a	0.87 ^b	0.91 ^{ab}	1.06 ^{ab}	0.084
C18:0	14.69	15.07	15.04	15.87	14.90	0.94
C18:1n ⁹	2.31	2.22	1.63	2.84	2.20	0.19
^c C18:1n ^{9t}	44.17	46.28	45.83	44.89	46.24	0.52
C18:2n ⁶	0.25	0.24	0.24	0.22	0.21	0.97
^c C18:2n ^{6t}	3.10	3.32	3.28	2.69	2.85	0.60
C18:3n ⁶	0.09	0.06	0.07	0.05	0.03	0.78
C18:3n ³	0.06	0.04	0.04	0.04	0.04	0.17
C20:0	0.38	0.27	0.18	0.25	0.32	0.010
C20:1n ⁹	0.72 ^{ab}	0.62 ^b	0.69 ^{ab}	0.82 ^a	0.58 ^b	0.014
C20:3n ³	0.05	0.05	0.08	0.04	0.04	0.35
C20:4n ⁶	0.14	0.13	0.08	0.05	0.08	0.46
C22:6n ³	0.86	0.39	0.53	0.33	0.46	0.27
TOTAL	94.89	95.49	93.90	96.73	95.96	

^{ab} Diferentes literales indican diferencia significativa (P<0.05) entre tratamientos dentro de la misma línea

Cuadro 5. Concentración de ácidos grasos saturados (mg/kg de músculo) contenidos en grasa total de *Longissimus lumborum* de ovinos con diferente nivel de suplementación en la dieta de aceites esenciales de orégano (alto = 0.4 g/kg BS; medio = 0.3 g/kg BS; bajo = 0.2 g/kg BS) o rumensin®

Tratamiento	C14:0±E.E.	C16:0±E.E.	C18:0±E.E.
Nivel alto	9.67±3.07 ^b	120.88±35.81 ^b	71.94±19.28 ^b
Nivel bajo	13.18±3.07 ^b	183.74±35.81 ^{ab}	103.58±19.28 ^{ab}
Control	13.99±3.07 ^b	172.7±35.81 ^b	94.93±19.28 ^b
Rumensin	14.47±3.07 ^{ab}	200.1±35.81 ^{ab}	121.7±19.28 ^{ab}
Nivel medio	23.50±3.07 ^a	289.77±35.81 ^a	164.17±19.28 ^a

^{ab} Diferentes literales indican diferencia significativa (P<0.05) entre tratamientos dentro de la misma columna

Ácidos Grasos Monoinsaturados C16:1 n⁷, C18:1n⁹ y C20:1n⁹

Las concentraciones de los ácidos monoinsaturados (MUFA's); C16:1 n⁷, C18:1n⁹ y C20:1n⁹ fueron diferentes entre tratamientos (P<0.05). En general, el tratamiento de 0.3 g/kg BS (nivel medio) en la dieta, resultó con concentraciones más altas de estos MUFA's (P<0.05). Por el contrario, el nivel más alto de aceites esenciales de orégano (0.4 g/kg BS) promovió concentraciones menores de los ácidos mencionados (P<0.05). Las diferencias específicas y las medias de las concentraciones pueden ser observadas en el

Cuadro 6. De manera general, los tratamientos de nivel alto, bajo y control tuvieron una tendencia a ser similares y con los más bajos valores. Mientras que el tratamiento con nivel medio y el rumensin, fueron más parecidos e invariablemente con mayores valores numéricos (P<0.05).

Ácido Graso Poli-insaturado C18:2n⁶

Las concentraciones de ácido linoleico en grasa total de carne de ovino resultaron ser diferentes por efecto del tratamiento de la dieta (P<0.05). La inclusión de un nivel medio de aceites esenciales de orégano en la dieta de ovinos incrementó las concentraciones del C18:2n⁶ (P<0.05, ver Cuadro 7). Las concentraciones

menores de C18:2 se presentaron en la carne de animales con un nivel alto de aceites esenciales en la dieta.

En general, en todos los casos en los que el perfil de ácidos grasos fue modificado por el tratamiento, el nivel medio de aceites esenciales y el rumensin en la dieta, fueron los tratamientos que presentaron incremento de ácidos grasos con respecto a los otros tres grupos experimentales. Por el comportamiento tan similar en todos los casos, se hipotetiza que el nivel medio de aceites esenciales y el ionóforo, posiblemente estén modificando el ambiente ruminal, ampliando o reduciendo el crecimiento de ciertas especies bacterianas gram-negativo como la *Escherichia coli*, *Provetella spp.* que a su vez promueven la diferente deposición de ácidos grasos ya sea en la porción de neutrolípidos (adipocitaria) o en capa bilipídica de membranas celulares. Dado que la mayoría de ácidos grasos con diferencias son saturados o monoinsaturados, puede pensarse que la fracción que se está modificando es aquella de neutrolípidos, por depósito de triglicéridos en los adipocitos intramusculares. Sin embargo, no se descarta el cambio a nivel de fosfolípidos, dado que es la fracción más fácilmente modificable en músculo, debido a cambios en la (Wood *et al.*, 2004; 2008)

La hipótesis anterior, está basada en los antecedentes que existen sobre el cambio de especies microbianas ruminales que se genera con la inclusión de monensina (rumensin®) en dietas de rumiantes (Castillejos *et al.*, 2006), o de aceites esenciales en las mismas, partiendo del conocimiento que dichos compuestos tienen efectos bactericidas o bacteriostáticos (Walsh *et al.*, 2003). Por un lado, existe evidencia de que la monensina afecta a las poblaciones microbianas

en el rumen, al grado de modificar la producción de ácidos volátiles (Schelling, 1984) pero además puede llegar a modificar también la digestibilidad de nutrientes, la fermentación ruminal y la utilización protéica de la dieta (Schelling, 1984). De manera más puntual, existen reportes de que ionóforos como la monensina, modifican el depósito de grasa en carne de bovino, particularmente el araquidónico (C20:4) y el linolénico (C18:3n3) los cuales son benéficos para la salud ya que reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Daley et al., 2010; Ladeira et al., 2014). Por otro lado, en leche de bovinos, también modifica la cantidad de grasa depositada, además de su perfil de ácidos grasos, incrementando particularmente de C18:2 (Silva et al., 2007).

Por otro lado, los aceites esenciales de orégano como el carvacrol o el timol, también se reportan con efectos antimicrobianos, afectando principalmente a poblaciones como; *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, protozoarios, hongos, *Ruminococcus fibrisolvens* y *Fibrobacter succinogenes*, afectando también la fermentación ruminal, actividad que es muy importante para la conversión de nutrientes de la dieta a tejido muscular (Gündüz et al., 2010; Valenzuela-Grijalva et al., 2017; Walsh et al., 2003). Específicamente en ovinos, existe evidencia que el uso de carvacrol en la dieta disminuye las concentraciones de acetato, mientras que incrementa el propionato y el butirato, ácidos grasos volátiles que son precursores de componentes para deposición de músculo o grasa en el animal (Koyunco y Canbolat, 2010). En especies como pollos de engorda, existe incluso el reporte del incremento de PUFA's y un decremento de SFA's en la pechuga de animales con suplementación de ambos; carvacrol y timol en la dieta

(Hashemipour *et al.*, 2013). El incremento de PUFA´s en la dieta humana favorecen a reducir el riesgo a desarrollar la enfermedad Alzheimer así como problemas de artritis, arterosclerosis, cáncer (Kremer *et al.*, 2016; Simopoulos, 2011).

Cuadro 6. Concentración de ácidos grasos monoinsaturados (mg/kg de músculo) contenidos en grasa total de *Longissimus lumborum* de ovinos con diferente nivel de suplementación en la dieta de aceites esenciales de orégano (Nivel alto = 0.4 g/kg BS; Nivel medio = 0.3 g/kg BS; Nivel bajo = 0.2 g/kg BS) o rumensin®

Trat	C16:1n ⁷ ±E.E.	C18:1n ⁹ ±E.E.	C18:1n ^{6c} ±E.E.	C20:1n ⁹ ±E.E.
Nivel alto	4.31±1.27 ^b	221.58±56.18 ^b	8.11±3.53 ^b	4.21±0.68 ^b
Nivel bajo	7.14±1.27 ^{ab}	321.59±56.18 ^{ab}	14.38±3.53 ^b	4.46±0.68 ^b
Control	6.60±1.27 ^{ab}	287.41±56.18 ^b	14.67±3.53 ^b	2.90±0.68 ^b
Rumensin	10.68±1.27 ^a	369.6±56.18 ^{ab}	16.82±3.53 ^b	3.54±0.68 ^b
Nivel medio	9.51±1.27 ^a	472.97±56.18 ^a	30.18±3.53 ^a	7.88±0.68 ^a

^{ab} Diferentes literales indican diferencia significativa (P<0.05) entre tratamientos dentro de la misma columna.

Cuadro 7. Concentración de C18:2n⁶ (mg/kg de músculo) contenido en grasa total de *Longissimus lumborum* de ovinos con diferente nivel de suplementación en la dieta de aceites esenciales de orégano (Nivel alto = 0.4 g/kg BS; Nivel medio = 0.3 g/kg BS; Nivel bajo = 0.2 g/kg BS) o rumensin®

Tratamiento	C18:2 n⁶	±E.E.
Nivel alto	14.04 ^b	2.94
Control	18.74 ^{ab}	2.94
Nivel Bajo	18.66 ^{ab}	2.94
Rumensin	24.88 ^{ab}	2.94
Nivel medio	27.10 ^a	2.94

^{ab} Diferentes literales indican diferencia significativa entre tratamientos (P<0.05).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se concluye que la presencia de aceite esencial de orégano con alto contenido de Carvacrol tiene un impacto positivo en algunas características físico-químicas de la carne, presentando cambios favorables como; una reducción de la caída del color después de siete días de anaquel (a^* , b^* C) a dosis de 0.2-0.3 g/kg BS y de Rumensin a dosis comercial en ovinos.

Así mismo la textura de la carne de ovino fue influenciada con la presencia de este aditivo en la dieta, observándose una menor fuerza de corte a dosis de 0.3g/kg BS. En caso contrario, la carne de ovinos suplementados con Rumensin® presentó una fuerza de corte mayor a todos los tratamientos, incluyendo el tratamiento Control. Se pudo observar que existió una correlación positiva ($P < 0.05$) con el perfil de ácidos grasos, en donde la carne de ovinos suplementados con dosis de 0.3 g/kg BS, presentó un aumento en el contenido de C16:1n⁷, C18:1n⁹, C18:1n⁶ y C20:1n⁹.

Por último, el aceite de orégano es una excelente alternativa para poder ser usado como sustituto del Rumensin® debido a la gran similitud que tuvieron los estudios realizados e incluso aportando mejores resultados en algunos de ellos.

BIBLIOGRAFIA

- Aguirre, a., Borneo, R., & León, a. E. (2013). Antimicrobial, mechanical and barrier properties of triticale protein films incorporated with oregano essential oil. *Food Bioscience*, 1, 2–9.
- Al-Nehlawi, a, Saldo, J., Vega, L. F., & Guri, S. (2013). Effect of high carbon dioxide atmosphere packaging and soluble gas stabilization pre-treatment on the shelf-life and quality of chicken drumsticks. *Meat Science*, 94(1), 1–8.
- Andújar, G., Pérez, D., & Venegas, O. (2003). *Química y bioquímica de la carne y los productos cárnicos*.
- Barbut, S. (2001, October). Effect of illumination source on the appearance of fresh meat cuts. *Meat Science*. Retrieved from
- Baron, C. P., & Andersen, H. J. (2002). Myoglobin-induced lipid oxidation. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 3887–3897.
- Bavera, G., Bocco, O., Beguet, H., & Petryna, A. (2002). Promotores del crecimiento y modificadores del metabolismo. *Cursos de Producción Bovina de Carne*, ..., (1970), 1–4.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, a. V. V., Fraser, G. R. R., Colombatto, D., McAllister, T. a. a., ... Beauchemin, K. a. a. (2008). A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1–4), 209–228.
- Boroski, M., Giroux, H. J., Sabik, H., Petit, H. V., Visentainer, J. V., Matumoto-Pintro, P. T., & Britten, M. (2012). Use of oregano extract and oregano essential oil as antioxidants in functional dairy beverage formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 47(1), 167–174.
- Botsoglou, N. a, Fletouris, D. J., Florou-paneri, P., Christaki, E., & Spais, A. B. (2003). Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and α -tocopherol acetate supplementation. *Food Res Int*, 36, 207–213.
- Boucqué, C., Fiems, L., & Cottyn, B. (1982). Monensin-sodium as a performance-promoting additive for fattening bulls and its impact on carcass and meat quality characteristics. *Animal Feed Science*, 7(479).
- Boylston, T., Chen, F., Coggins, P., & Hydlig, G. (2012). Factors Affecting Food Quality: A Primer. In Wiley-Blackwell (Ed.), *Handbook of meat, poultry and seafood quality* (Second, p. 3-).

- Brewer, M. S. (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(4), 221–247.
- Brewer, M. S. (2014). Chemical and physical characteristics of meat: Water holding capacity. In *Encyclopedia of meat sciences* (2nd ed., pp. 242–249). Elsevier Science.
- Callaway, T. R., Edrington, T. S., & Rychlik, J. L. (2003). Ionophores : Their Use as Ruminant Growth Promotants and Impact on Food Safety, 43–51.
- Camo, J., Lorés, A., Djenane, D., Beltrán, J. A., & Roncalés, P. (2011). Display life of beef packaged with an antioxidant active film as a function of the concentration of oregano extract. *Meat Science*, 88(1), 174–8.
- Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, a., & Kamel, C. (2005). Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *Journal of Animal Science*, 83, 2572–2579.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., & Ferret, a. (2006). Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2649–2658.
- Castro-Montoya, J. M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2012). Effects of monensin on the chemical composition of the liquid associated microbial fraction in an in vitro rumen fermentation system. *Livestock Science*, 150(1–3), 414–418.
- Cavero, S., García-Risco, M. R., Marín, F. R., Jaime, L., Santoyo, S., Señoráns, F. J., ... Ibañez, E. (2006). Supercritical fluid extraction of antioxidant compounds from oregano. *The Journal of Supercritical Fluids*, 38(1), 62–69.
- Chaves, a. V., Stanford, K., Gibson, L. L., McAllister, T. a., & Benchaar, C. (2008). Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1–4), 396–408.
- Chouliara, E., Karatapanis, a., Savvaidis, I. N., & Kontominas, M. G. (2007). Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C. *Food Microbiology*, 24(6), 607–617.
- Chun, S.-S., Vatter, D. a., Lin, Y.-T., & Shetty, K. (2005). Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry*, 40(2), 809–816.

- Cittera, A., Cazzola, R., Cestaro, B., & Precliniche, S. (2000). Antioxidant Properties of Oregano (*Origanum Vulgare*) Leaf Extracts. *Journal of Food Biochemistry*, 24, 453–465.
- Cooksey, K. (2014). Chapter 19 - Modified Atmosphere Packaging of Meat, Poultry and Fish. In J. H. B. T.-I. in F. P. (Second E. Han (Ed.), *Food Science and Technology* (pp. 475–493). San Diego: Academic Press.
- Daley, C. a, Abbott, A., Doyle, P. S., Nader, G. A., & Larson, S. (2010). A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal*, 9, 10.
- Faustman, C., & Cassens, R. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat: A review. *Journal of Muscle Foods*, 1(1990), 217–243.
- Feiner, G. (2006). *Meat products handbook: Practical science and technology* (First). New Y: Woodhead Publishing Limited.
- Gallo, M., Ferracane, R., & Naviglio, D. (2012). Antioxidant addition to prevent lipid and protein oxidation in chicken meat mixed with supercritical extracts of *Echinacea angustifolia*. *The Journal of Supercritical Fluids*, 72, 198–204.
- Goll, D., Thompson, V., Li, H., Wei, W., & Cong, J. (2003). The Calpain System. *Physiol Rev*, 83(284), 731–801.
- Gündüz, G., Gönül, Ş., & Karapınar, M. (2010). Efficacy of oregano oil in the inactivation of *Salmonella typhimurium* on lettuce. *Food Control*.
- Hashemipour, H., Kermanshahi, H., Golian, A., & Veldkamp, T. (2013). Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance , antioxidant enzyme activities , fatty acid composition , digestive enzyme activities , and immune response in broiler chickens. *Poultry Science*, 8(92), 2059–2069.
- Hashemipour, H., Khaksar, V., Rubio, L. a., Veldkamp, T., & van Krimpen, M. M. (2015). Effect of feed supplementation with a thymol plus carvacrol mixture, in combination or not with an NSP-degrading enzyme, on productive and physiological parameters of broilers fed on wheat-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 211, 117–131.
- Hernández-Hernández, E. (2009). Antioxidant effect rosemar (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters. *Meat Science*, 81, 410–417.
- Hopkins, D. L., & Mortimer, S. I. (2014). Effect of genotype, gender and age on sheep meat quality and a case study illustrating integration of knowledge. *Meat Science*, 98(3), 544–55.

- Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, *71*(1), 194–204.
- Iglesias, E. G., Cabezas, L. G., & Fernández Nuevo, J. L. (2006). *tecnologías de envasado en atmósfera protectora* (CEIM).
- Introduction, I., Introduction, I., GOLL, D. E., THOMPSON, V. F., LI, H., WEI, W., & CONG, J. (2003). The Calpain System. *Physiological Reviews*, *1990*(284), 731–801.
- Janz, J. a M., Morel, P. C. H., Wilkinson, B. H. P., & Purchas, R. W. (2007). Preliminary investigation of the effects of low-level dietary inclusion of fragrant essential oils and oleoresins on pig performance and pork quality. *Meat Science*, *75*, 360–365.
- Jayasena, D. D., & Jo, C. (2013). Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 1–13.
- Jeong, J.-Y., Kim, G.-D., Yang, H.-S., & Joo, S.-T. (2011). Effect of freeze–thaw cycles on physicochemical properties and color stability of beef semimembranosus muscle. *Food Research International*, *44*(10), 3222–3228.
- Jeremiah, L. E., Dugan, M. E. R., Aalhus, J. L., & Gibson, L. L. (2003). Assessment of the relationship between chemical components and palatability of major beef muscles and muscle groups. *Meat Science*, *65*(3), 1013–9.
- Karabagias, I., Badeka, a., & Kontominas, M. G. (2011). Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Science*, *88*(1), 109–16.
- Kim, Y. H., Nam, K. C., & Ahn, D. U. (2002). Volatile profiles, lipid oxidation and sensory characteristics of irradiated meat from different animal species. *Meat Science*, *61*(3), 257–265.
- Kjær, M. (2004). Role of Extracellular Matrix in Adaptation of Tendon and Skeletal Muscle to Mechanical Loading, 649–698.
- Koohmaraie, M., & Geesink, G. H. (2006). Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, *74*(1), 34–43.
- Koyunco, M., & Canbolat, O. (2010). Effect of Carvacrol on Intake, Rumen Fermentation, Growth Performance and Carcass Characteristics of Growing Lambs. *Journal of Applied Animal Research*, (38), 245–248.

- Kremer, J., Lawrence, D., & Jubiz, W. (2016). Different doses of fish-oil fatty acid ingestion in active rheumatoid arthritis: A prospective study of clinical and immunological parameters, dietary ω 3 and ω 6 fatty acids. *Springer*, 343–350.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil, 85, 633–640.
- Ladeira, M. M., Santarosa, L. C., Chizzotti, M. L., Ramos, E. M., Machado Neto, O. R., Oliveira, D. M., ... Ribeiro, J. S. (2014). Fatty acid profile, color and lipid oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. *Meat Science*, 96(1), 597–605.
- Leygonie, C., Britz, T. J., & Hoffman, L. C. (2012). Meat quality comparison between fresh and frozen/thawed ostrich *M. iliofibularis*. *Meat Science*, 91(3), 364–8.
- Lopez-Carlos, M. a., Ramirez, R. G., Aguilera-Soto, J. I., Plascencia, a., Rodriguez, H., Arechiga, C. F., ... Gutierrez-Bañuelos, H. (2011). Effect of two beta adrenergic agonists and feeding duration on feedlot performance and carcass characteristics of finishing lambs. *Livestock Science*, 138(1–3), 251–258.
- Luño, M., Beltrán, J. a, & Roncalés, P. (1998). Shelf-life extension and colour stabilisation of beef packaged in a low O₂ atmosphere containing CO: Loin steaks and ground meat. *Meat Science*, 48(1–2), 75–84.
- Maltin, C., Balcerzak, D., Tilley, R., & Delday, M. (2003). Determinants of meat quality: tenderness. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 62(2), 337–347.
- Mancini, R. a, & Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100–21.
- Marcela, S., Meneses, O., Régulo, J., & Valenzuela, C. (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. *Redalyc*, 5(2), 112–123.
- Marino, R., Albenzio, M., Della Malva, a., Santillo, a., Loizzo, P., & Sevi, a. (2013). Proteolytic pattern of myofibrillar protein and meat tenderness as affected by breed and aging time. *Meat Science*, 95(2), 281–7.
- McMillin, K. W. (2008). Where is MAP Going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Science*, 80(1), 43–65.
- Melody, J. L., Lonergan, S. M., Rowe, L. J., Huiatt, T. W., & Mayes, M. S. (2004). Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles Early postmortem biochem, 1195–1205.
- Min, B., Nam, K. C., Cordray, J., & Ahn, D. U. (2008). Endogenous factors affecting

- oxidative stability of beef loin, pork loin, and chicken breast and thigh meats. *Journal of Food Science*, 73(6).
- Mir, P. S., Mcallister, T. A., Scott, S., Aalhus, J., Baron, V., McCartney, D., ... Mir, Z. (2004). Conjugated linoleic acid – enriched beef production, 79, 1207–1211.
- Narasimha Rao, D., & Sachindra, N. M. (2002). Modified Atmosphere and Vacuum Packaging of Meat and Poultry Products. *Food Reviews International*, 18(June 2013), 263–293.
- Nishimura, T. (2010). The role of intramuscular connective tissue in meat texture. *Animal Science Journal*.
- Nishimura, T. (2010). The role of intramuscular connective tissue in meat texture. *Animal Science Journal*, 81(1), 21–7.
- Nishimura, T., Hattori, A., & Takahashi, K. (1994). Ultrastructure of the intramuscular connective tissue in bovine skeletal muscle. *Cells Tissues Organs*.
- Pearson, A., & Dutson, T. (1994). Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products.
- Pérez, M. L., Escalona, H., & Guerrero, I. (1998). Effect of calcium chloride marination on calpain and quality characteristics of meat from chicken, horse, cattle and rabbit. *Meat Science*, 48(1–2), 125–34.
- Petrou, S., Tsiraki, M., Giatrakou, V., & Savvaidis, I. N. (2012). Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. *International Journal of Food Microbiology*, 156(3), 264–271.
- Purslow, P. P. (2005). Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science*, 70(3), 435–47. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.06.028>
- Qi, J., Li, C., Chen, Y., Gao, F., Xu, X., & Zhou, G. (2012). Changes in meat quality of ovine longissimus dorsi muscle in response to repeated freeze and thaw. *Meat Science*, 92(4), 619–26.
- Ramos, F. A., Martínez, A. P., Montes, E. S., Gaytán, C. N., Selene, A., Cázarez, H., ... Rodríguez, C. (2017). Oregano oil use in broiler diet increases accumulation of carvacrol and thymol in breast meat Broiler production, 27(1), 34–39.
- Rhee, K. S., Anderson, L. M., & Sams, a. R. (1996). Lipid Oxidation Potential of Beef, Chicken, and Pork. *Journal of Food Science*, 61(1), 8–12.

- Russell, J. B., & Houlihan, A. J. (2003). Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. *FEMS Microbiology Reviews*, 27(1), 65–74.
- Schelling, G. (1984). Monensin mode of action in the rumen. *Journal of Animal Science*, 1518–1527.
- Sentandreu, M., Coulis, G., & Ouali, A. (2002). Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Science & Technology*, 13(2002), 400–421.
- Silva, D. C., Santos, G. T., Branco, A. F., Damasceno, J. C., Kazama, R., Matsushita, M., ... Petit, H. V. (2007). Production Performance and Milk Composition of Dairy Cows Fed Whole or Ground Flaxseed With or Without Monensin 1 , 2. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2928–2936.
- Simitzis, P. E., Symeon, G. K., Charismiadou, M. a, Bizelis, J. a, & Deligeorgis, S. G. (2010). The effects of dietary oregano oil supplementation on pig meat characteristics. *Meat Science*, 84(4), 670–6.
- Simopoulos, A. P. (2011). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54(3), 438–463.
- Smith, M., Shipp, L., & Songster, W. (1980). Effect of monensin, energy level, and cow body condition on pregnancy rate in nonlactating beef cows. *Theriogenology*, 14(2). Retrieved from
- Stolowski, G. D., Baird, B. E., Miller, R. K., Savell, J. W., Sams, a R., Taylor, J. F., ... Smith, S. B. (2006). Factors influencing the variation in tenderness of seven major beef muscles from three Angus and Brahman breed crosses. *Meat Science*, 73(3), 475–83.
- Suman, S. P., & Joseph, P. (2013). Myoglobin chemistry and meat color. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4, 79–99.
- Sun, X. D., & Holley, R. a. (2012). Antimicrobial and Antioxidative Strategies to Reduce Pathogens and Extend the Shelf Life of Fresh Red Meats. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(4), 340–354.
- TEC, E. (2001). Meat technology update. *Meatupdate.csiro.au*, (August), 0–3.
- Troy, D. J., & Kerry, J. P. (2010). Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Science*, 86(1), 214–26.
- Ullery, J. C., & Marnett, L. J. (2012). Protein modification by oxidized phospholipids and hydrolytically released lipid electrophiles: Investigating cellular responses.

Biochimica et Biophysica Acta, 1818(10), 2424–35.

Valenzuela-grijalva, N. V., Pinelli-saavedra, A., Muhlia-almazan, A., Domínguez-díaz, D., & González-ríos, H. (2017). Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production, 1–17.

Velleman, S. G. (2012). Meat science and muscle biology symposium: Extracellular matrix regulation of skeletal muscle formation. *Journal of Animal Science*, 90(3), 936–941.

Walsh, S. E., Maillard, J. Y., Russel, A. D., Catrenich, C. E., Charbonneau, A. L., & Bartolo, R. G. (2003). Activity and Mechanism of Action of Selected Biocidal Agents on Gram -positive and -negative Bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 240–247.

Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., & Koohmaraie, M. (2000). Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. *Journal of Animal Science*, 78, 958–965.

Wongwichian, C., Klomkiao, S., Panpipat, W., Benjakul, S., & Chaijan, M. (2015). Interrelationship between myoglobin and lipid oxidations in oxeye scad (Selar boops) muscle during iced storage. *Food Chemistry*, 174, 279–285.

Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., ... Whittington, F. M. (2008). MEAT Fat deposition , fatty acid composition and meat quality : A review, 78, 343–358.

Wood, J. D., Nute, G. R., Richardson, R. I., Whittington, F. M., Southwood, O., Plastow, G., ... Chang, K. C. (2004). Effects of breed, diet and muscle on fat deposition and eating quality in pigs. *Meat Science*, 67(4), 651–667.

Wu, G., Farouk, M. M., Clerens, S., & Rosenvold, K. (2014). Effect of beef ultimate pH and large structural protein changes with aging on meat tenderness. *Meat Science*, 98(4), 637–45.

Wu, J., Kastner, C., Hunt, M., Kropf, D., & Allen, D. (2008). Nutritional effects on beef collagen characteristics and palatability, 1256–1261.