**FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE HIGIENE Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS**

**EFFECTOS DE LA ALIMENTACIÓN DE LOS ANIMALES, EL
COCINADO O EL ALMACENAMIENTO SOBRE LOS
COMPUESTOS VOLÁTILES DE LA CARNE DE RUMIANTE**

**EFFECTS OF ANIMAL FEEDING, MEAT COOKING OR
STORAGE ON THE VOLATILE COMPOUNDS OF RUMINANT
MEAT**

**TESIS PRESENTADA POR
SERGIO SOTO SIMENTAL
PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**

Dirigida por:
Dr. Javier Mateo Oyagüe
Profesor Titular del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos
y
Dra. Irma Caro Canales
Profesora Asociada del Departamento de Higiene y Tecnología de los
Alimentos

León, Castilla y León, España. Marzo de 2015

Esta Tesis Doctoral estuvo financiada mediante los fondos obtenidos de:

Estancias de Investigación a través del Programa Integral para el Fortalecimiento Institucional (PIFI) otorgado al Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Beca para redacción de tesis del Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) que otorga la Secretaría de Educación Pública (SEP), México.

Apoyo financiero recibido del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos.

Proyecto financiado por el Instituto Tecnológico Agrario (ITACYL) de la Consejería de Agricultura de Castilla y León (Proyecto VA C2 C) y coordinado en la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Valladolid.

Proyecto financiado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (Ref. INIA-RTA 2007-00003-00-00), coordinado en el Centro de Investigación y Formación Agraria (CIFA) del Gobierno de Cantabria.

Proyecto de investigación financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto 201240-E105), coordinado en el Instituto de Ganadería de Montaña del Consejo Superior de Investigaciones Científicas – Universidad de León.

DEDICATORIAS

Mis hijos, Aldrich Vladimir y Christian Yael. A mi novia, Sandy.

Mi mamá Lucia Simental Zapata (qepd),

Mi papá Antonio Soto Gamiz.

Mis hermanos, Lucia, Margarita, Abundio y Cesar.

Mis sobrinos, Cecilia, César, Daniela, José, Erick, Luis Miguel, Vianey Lucia, Emen y Daniel.

AGRADECIMIENTOS

Es importante dar las gracias y tener fe, a la vida por sí misma y fe en algo supremo, sería mezquino de mi parte omitir a alguien es por ello que les agradezco a todas y cada una de las personas que han contribuido no solo para la culminación de esta tesis, sino en mi vida diaria, gracias a todos. Sin embargo quisiera resaltar de manera muy particular a algunas personas.

A la familia Mateo Caro, quienes me han acogido en todo momento como parte de su familia, gracias por todos esos días que han compartido conmigo y que me han enseñado a ser parte de una familia.

A Ana Fernández Diez.

También me gustaría resaltar a las personas que trabajan en diversos programas e instituciones que han hecho posible mi estancia en León y la culminación de esta tesis.

Al Programa de Mejoramiento del Profesorado de la Subsecretaria de Educación Superior de la Secretaria de Educación Pública de México.

En el Programa Integral para el Fortalecimiento Institucional, a la Dra. Norma y al Dr. Otilio.

En la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, a la Sra. Conchita, Ing. Tolentino y Lic. Luz.

En la Universidad de León. A todos aquellos que me han ayudado en mi estancia y mi trabajo de tesis.

En la Universidad Nacional Agraria La Molina, a la Dra. Bettit.

En las instituciones de educación superior de México y que estuvieron de estancia en la Universidad de León. Onésimo, Roberto, Icela, Lucía, Luz y Fabiola.

PRÓLOGO

La presente tesis tiene como hilo conductor el estudio de los compuestos volátiles relacionados con el aroma y el sabor de la carne de rumiante, abarcando varios experimentos realizados en la carne de diferentes especies: ovinos, alpacas y bovinos. En la tesis se ha llevado a cabo un total de cinco experimentos. Dos de ellos han sido diseñados y ejecutados de forma exclusiva e íntegra para este trabajo de tesis. Los otros tres forman parte de proyectos de investigación más amplios, en los que el estudio de los compuestos volátiles de la carne ha representado solamente una parte de los mismos. La tesis se ha estructurado en seis capítulos, iniciando con una introducción general o revisión bibliográfica y siguiendo con un capítulo para cada uno de los cinco experimentos realizados.

En el primer capítulo o introducción general se detallan las bases del aroma y sabor de la carne, con especial interés en la carne de rumiantes. Se describe la degradación de los lípidos, la reacción de Maillard y la interacción entre ambas reacciones como fuente de la mayor parte de los compuestos volátiles presentes en la carne cocinada. También, se comenta cómo algunos compuestos volátiles relevantes pueden llegar a los tejidos del animal procedentes del tracto digestivo o de los alimentos. Finalmente, se recopila información sobre la metodología utilizada para la extracción y determinación de los compuestos volátiles en la carne.

El segundo capítulo de la tesis contiene un estudio experimental sobre la barbacoa de ovino que tradicionalmente se produce en México, la cual tiene como característica principal el que la carne se cocina bajo tierra recubierta con hojas de maguey (*Agave salmiana*). Se evaluaron los compuestos volátiles producidos por las hojas de maguey asadas antes y después del cocinado. También se evaluó el efecto que sobre la composición volátil de la carne de ovino ejerce el cocinarla recubierta de hojas de maguey.

En el tercer capítulo se estudió el contenido en compuestos volátiles de la carne de alpaca, comparando dicho contenido entre la carne con o sin un olor atípico y desagradable conocido como “olor a tola”, que se presenta cuando los animales consumen ciertos arbustos tolares. Además, se compararon dos métodos de extracción de los compuestos volátiles basados en el espacio de

cabeza estático. Este capítulo está publicado en la revista *Interciencia*: Soto, S., Salvá, B.K., Gutiérrez-Méndez, N., Caro, I., Mateo, J. (2015). Comparación entre carne con y sin el olor atípico atribuido al consumo de arbustos tolare. *Interciencia*, 40,38-43.

El cuarto capítulo describe el contenido en los compuestos volátiles presentes en la grasa perirrenal de canales procedentes de terneras de una raza autóctona de la región de Cantabria, la raza Tudanca, con el fin de establecer diferencias entre la carne de animales criados mediante un sistema semi-extensivo de la de aquellos que fueron criados mediante un sistema intensivo. La investigación se centró especialmente en los compuestos terpénicos como indicadores de pastoreo en carne de vacuno. El estudio es parte de un proyecto de investigación amplio financiado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (Ref. INIA-RTA 2007-00003-00-00), coordinado en el Centro de Investigación y Formación Agrarias del Gobierno de Cantabria.

El quinto capítulo describe el efecto de alimentar ovejas en lactación con distintos aceites vegetales sobre los volátiles de la carne de los corderos lactantes. Se utilizaron aceites de palma, soja, oliva y linaza. Este estudio es parte de un proyecto de investigación financiado por el Instituto Tecnológico Agrario de la Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León (Proyecto VA C2 C) y coordinado en la Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias de la Universidad de Valladolid. Los resultados de este capítulo, junto con otros obtenidos en la investigación del proyecto mencionado, han sido publicados en la revista *Meat Science*: Vieira, C., Fernández-Diez, A., Mateo, J., Bodas, R., Soto, S., Manso, T. (2012). Effects of addition of different vegetable oils to lactating dairy ewes' diet on meat quality characteristics of suckling lambs reared on the ewes' milk. *Meat Science*, 91,277-283.

En el sexto y último capítulo aborda el efecto del uso de ácido carnósico como suplemento en la dieta de corderos lactantes sobre los compuestos volátiles de su carne, con énfasis en aquellos compuestos volátiles indicadores de la estabilidad oxidativa, ya que el ácido carnósico tiene efecto antioxidante. El estudio es parte de las investigaciones del proyecto de investigación financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (Proyecto 201240E105) y coordinado en el Instituto de Ganadería de Montaña del Consejo Superior de Investigaciones Científicas – Universidad de León. Los resultados

de este capítulo junto con los obtenidos en de otras investigaciones, ha sido publicado en la revista Small Ruminant Research: Morán, L., Andrés, S., Mateo, J., Blanco, C., Soto, S., Giráldez, F.J. (2014). Effect of dietary carnosic acid on meat quality from suckling lambs. Small Ruminant Research, 121, 314-319.

Contenido

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN. COMPUESTOS VOLÁTILES DE LA CARNE CON ÉNFASIS EN LA CARNE DE RUMIANTE.....	1
1. Compuestos volátiles de la carne.....	1
1.1. Generalidades sobre el sabor de la carne.....	1
1.2. Compuestos volátiles derivados de los lípidos	1
1.3. Compuestos volátiles derivados de la reacción de Maillard	3
1.4. Otros compuestos volátiles de la carne.....	4
2. Los volátiles de la carne de rumiante	4
2.1. Principales compuestos volátiles responsables del sabor de la carne de rumiante	4
2.2. Factores <i>premortem</i> y <i>postmortem</i> con efecto en el sabor de la carne de rumiante	6
Alimentación con forraje vs alimentación con concentrado	7
Suplementación de la dieta con grasas y aceites.....	10
Suplementación de la dieta con antioxidantes naturales.....	11
3. Metodología utilizada para determinar los compuestos volátiles de la carne	12
4. Bibliografía	15
CAPÍTULO 2. EFECTO DEL USO DE PENCA DE MAGUEY (<i>Agave salmiana</i>) EN EL COCINADO DE LA CARNE DE OVINO SOBRE SU PERFIL VOLÁTIL	25
Resumen.....	25
1. Introducción	26
1.1. Generalidades sobre la producción y consumo de carne de ovino en México	26
1.2. La barbacoa de ovino	28
1.3. Otras carnes cocinadas bajo tierra en Latinoamérica	33
1.4. El maguey	34
2. Objetivos.....	37
3. Materiales y Métodos.....	37
3.1. Resumen del plan experimental	37
3.2. Obtención y preparación de las muestras	38
3.2.1. Obtención de las pencas de maguey	38
3.2.2. Experimento preliminar. Efecto del maguey sobre la estabilidad oxidativa de la carne de ovino cocinada.....	38

3.2.3. Preparación de muestras para determinar el contenido de compuestos volátiles de la penca de maguey y de la carne cocinada con o sin el uso de penca de maguey.....	39
3.3. Análisis de laboratorio	40
3.3.1. Análisis de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (ATB).....	40
3.3.2. Análisis de componentes volátiles.....	41
3.4. Análisis estadístico	43
4. Resultados y Discusión	43
4.1. Efecto del maguey sobre la estabilidad oxidativa de la carne cocinada	43
4.2. Contenido de compuestos volátiles de la penca de maguey.....	45
4.3. Efecto del maguey en los compuestos volátiles de la carne cocinada	46
5. Conclusiones	49
6. Bibliografía.....	50
CAPÍTULO 3. COMPUESTOS VOLÁTILES EN CARNE DE ALPACA (<i>Vicugna pacos</i>) COMPARACIÓN ENTRE CARNE CON Y SIN EL OLOR ATÍPICO ATRIBUIDO AL CONSUMO DE ARBUSTOS TOLARES	55
Resumen	55
1. Introducción.....	55
2. Objetivos	58
3. Materiales y Métodos	59
3.1. Obtención de muestras	59
3.2. Análisis cromatográfico	59
3.3. Análisis estadístico	61
4. Resultados y Discusión	61
4.1. Volátiles en carne de alpaca	61
4.2. Comparación entre técnicas de extracción.....	66
5. Conclusiones.....	66
6. Bibliografía	67
CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES DE LA GRASA DE TERNEROS DE RAZA TUDANCA CRIADOS CON SISTEMAS SEMI-EXTENSIVO O INTENSIVO CON ESPECIAL INTERÉS EN LOS COMPUESTOS TERPÉNICOS.....	74
Resumen	74
1. Introducción	75
1.1. Denominación Geográfica Protegida.....	75
1.2. Carne de Cantabria y características productivas de la raza Tudanca	75
1.3. Sistemas de alimentación y producción de compuestos volátiles	76

2. Objetivo	77
3. Materiales y Métodos	78
3.1. Obtención de las muestras.....	78
3.2. Determinación de compuestos volátiles extraídos por destilación-extracción simultánea	79
3.3. Determinación de compuestos terpénicos extraídos por microextracción en fase sólida	81
3.4. Análisis estadístico	82
4. Resultados y Discusión	82
4.1. Compuestos volátiles en grasa perirrenal extraída por destilación-extracción simultánea	82
4.2. Compuestos terpénicos en grasa perirrenal extraída por SPME.....	88
5. Conclusiones.....	91
6. Bibliografía	91
CAPÍTULO 5. EFECTO DEL USO ACEITES VEGETALES EN LA DIETA DE OVEJAS EN LACTACIÓN SOBRE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE LA CARNE DE CORDERO LECHAL.....	96
Resumen	96
1. Introducción.....	96
1.1. Sistemas de producción ovina en España.....	96
1.2. Modificación de los lípidos de la carne mediante cambios en la dieta de los ovinos	97
1.3. Efecto de los aceites vegetales en la alimentación de ganado ovino sobre los compuestos volátiles de la carne	99
2. Objetivo	99
3. Materiales y Métodos	100
3.1. Preparación de las muestras y diseño experimental	100
3.2. Composición de volátiles en la carne de los corderos lechales.....	100
3.3. Análisis estadístico	103
4. Resultados y Discusión	103
5. Conclusiones.....	107
6. Bibliografía	108
CAPÍTULO 6. EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE LA LECHE CON ÁCIDO CARNÓSIDICO SOBRE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE LA CARNE DE CORDERO LECHAL	112
Resumen	112
1. Introducción.....	112

1.1. La carne de cordero lechal	112
1.2. Uso de antioxidantes en la alimentación de ganado ovino.....	113
1.3. El romero como antioxidante natural	114
2. Objetivo	115
3. Materiales y Métodos	115
3.1. Manejo y sacrificio de los animales	115
3.2. Preparación de las muestras	116
3.3. Análisis cromatográfico	116
3.4. Identificación y cuantificación de los compuestos volátiles	117
3.5. Análisis estadístico	118
4. Resultados y Discusión	118
5. Conclusiones	120
6. Bibliografía	120

CAPÍTULO 1

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN. COMPUESTOS VOLÁTILES DE LA CARNE CON ÉNFASIS EN LA CARNE DE RUMIANTE

1. Compuestos volátiles de la carne

1.1. Generalidades sobre el sabor de la carne

El sabor de los alimentos se entiende como el conjunto de sensaciones olfato-gustativas, táctiles y quinesísticas que se perciben durante su deglución y que permiten a un sujeto identificar un alimento y establecer un criterio, a distintos niveles, incluido el de agrado o desagrado. Los estímulos olfativos están constituidos por los compuestos volátiles del alimento, los cuales estimulan los receptores olfativos por vía retronasal. Por la otra parte, el gusto generalmente está inducido por compuestos sápidos, solubles en agua, de mayor peso molecular que los volátiles, que estimulan los receptores gustativos de la lengua. Finalmente, la percepción del sabor viene influenciada por las propiedades táctiles y térmicas del alimento y por su estructura y textura en la boca (Almela *et al.*, 2009; Seo y Hummel, 2012).

La carne cruda presenta un ligero olor a suero y un débil sabor metálico. Es en el cocinado de la carne donde se desarrolla el sabor de la misma, de forma que la carne cocinada tiene un sabor mucho más intenso que la cruda, lo que es causado por la degradación térmica que experimentan algunos de sus componentes, como lípidos, azúcares y aminoácidos, entre otros (Shahidi, 1994; Lee y Shibamoto, 2002; Almela *et al.* 2009). La química del sabor de la carne cocinada es compleja (Mottram, 1998; Calkins y Hodgen, 2007; Almela *et al.*, 2010). Existen cientos de compuestos en la carne cocinada que contribuyen a su sabor y aroma (Mottram, 1998). Estos son de naturaleza diversa, encontrándose sustancias hidrosolubles y liposolubles, incluyendo hidrocarburos, aldehídos, cetonas, alcoholes, furanos, tiazoles, pirroles, piridinas, pirazinas, oxazoles, tiazoles, compuestos azufrados, etc. (Pegg y Shahidi, 2004; Calkins y Hodgen, 2007). Además, el aroma de la carne y los compuestos responsables del mismo no son estables y pueden sufrir modificaciones durante el almacenamiento y recalentamiento.

1.2. Compuestos volátiles derivados de los lípidos

En el cocinado de la carne, el calor provoca la hidrólisis y oxidación o degradación de los ácidos grasos mediante la formación de hidroperóxidos, los

cuales son los responsables de la formación de numerosos compuestos secundarios, de naturaleza alifática y cíclica, algunos de ellos con gran impacto en el sabor de la carne (Nawar, 2000; Calkins y Hodgen, 2007; Barriuso *et al.*, 2013). Durante el almacenamiento de la carne fresca y cocinada, los lípidos también experimentan oxidación, catalizada por diversos agentes como el hierro o la luz y mediada por un mecanismo radicalario. A partir de esta oxidación se generan compuestos volátiles de naturaleza similar a los formados en la degradación térmica, que llegando a niveles suficientemente elevados ocasionan el sabor a carne rancia u oxidada (Gandamer, 2002; Resconi *et al.*, 2013). A grandes rasgos, los compuestos volátiles derivados de la oxidación de los lípidos en la carne pueden agruparse en hidrocarburos alifáticos, aldehídos, cetonas, alcoholes, ácidos carboxílicos y ésteres (Mottram, 1998; Lee y Shibamoto, 2002; Gandamer, 2002).

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) son los compuestos lipídicos más afectados por la oxidación (Mottram, 1998; Nawar, 2000). Los lípidos de la carne, en especial, los fosfolípidos estructurales, ricos en ácidos grasos poliinsaturados, son los principales precursores del sabor de la carne cocinada y son responsables en gran medida de las diferencias de sabor entre especies (Mottram, 1998).

Los principales compuestos, de entre los derivados de la oxidación de los lípidos, responsables del sabor de la carne pertenecen a las familias de los alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, ésteres, furanos y lactonas (Calkins y Hodgen, 2007; Barriuso *et al.* (2013). Gandamer (2002) indica que los más importantes son aquellos que tienen bajo umbral de detección como los aldehídos alifáticos de cadena corta-media (C3-C10), las cetonas insaturadas (C5-C10) y ciertos compuestos furánicos, como el pentilfurano. De todos ellos cabe destacar el efecto de los aldehídos de bajo peso molecular, como hexanal, nonanal y 2,4-decadienal, que son moléculas presentes en elevada concentración en la carne cocinada y con bajo umbral de percepción (Gandamer, 2002; Calkins y Hodgen, 2007). Las notas aromáticas producidas por estos aldehídos, saturados e insaturados de entre 5 y 10 carbonos, se han descrito como a hierba, grasa, sebo, grasa frita, afrutado, mohoso, etc. (Mottram, 1998; Gandamer, 2002).

1.3. Compuestos volátiles derivados de la reacción de Maillard

La reacción de Maillard es un complejo conjunto de reacciones químicas no enzimáticas de pardeamiento que se inicia con una reacción de condensación entre un grupo carbonilo de un azúcar reductor y un grupo amino de un aminoácido en presencia de calor, formando una base de Schiff (Thorpe y Baynes, 2003; Calkins y Hodgen, 2007; Almela *et al.*, 2009; Echavarria *et al.*, 2012). A partir de este punto, se generan numerosos compuestos volátiles mediante varios mecanismos químicos como la transposición de Amadori o Heyns (dependiendo de si el azúcar es aldosa o cetosa), la formación de reductonas o la degradación de Strecker. Los factores que más influyen en la reacción de Maillard respecto a la formación de compuestos aromáticos son la temperatura (Ames *et al.*, 2001; Martins *et al.*, 2001; van Boekel, 2006), la presencia de aminoácidos y azúcares reductores, la actividad de agua (Hartman *et al.*, 1984; van Boekel, 2006) y el pH (Meynier y Mottram, 1995; Martins *et al.*, 2001; van Boekel, 2006).

Los diferentes azúcares y grupos amino producen diferentes volátiles. Por ejemplo, la cisteína y la glucosa producen compuestos azufrados, que bajo condiciones de oxidación pueden formar pirazinas y furanos (Meynier y Mottram, 1995; Calkins y Hodgen, 2007). Como ejemplo adicional, la reacción entre el glutatión y la glucosa produce mayoritariamente tiofenos y tiazoles a pH entre 6 y 8, mientras que en condiciones más ácidas produce furanos. Como tercer ejemplo, la cisteína en presencia de ribosa y tiamina, forma 2-metil-3-furantiol, tioles y disulfuros (Calkins y Hodgen, 2007).

La degradación de Strecker de los aminoácidos es una de las reacciones más importantes del aroma de la carne cocinada. Esta degradación es producida por los compuestos α -carbonilo formados a partir de la reacción entre un azúcar y un aminoácido, la cual después de un rearrreglo, descarboxilación e hidrólisis, produce compuestos carbonílicos metil-ramificados (aldehído de Strecker; por ejemplo metil-butanal) con bajos umbrales de percepción aromática y aromas característicos (Hidalgo y Zamora, 2005; Zamora e Hidalgo, 2005).

Finalmente, cabe indicar la interacción existente entre la reacción de Maillard y la oxidación de los lípidos, pues una influye sobre la otra y, también, porque entre los volátiles de la carne están aquellos cuya presencia se atribuye

a reacciones químicas entre los compuestos formados en una con los formados en la otra (Hidalgo y Zamora, 2005; Zamora e Hidalgo, 2005).

1.4. Otros compuestos volátiles de la carne.

Existen una proporción minoritaria de compuestos volátiles en la carne que tienen otra procedencia diferente a la degradación/oxidación lipídica o la reacción de Maillard. Estos pueden proceder directamente de la dieta o formarse en el tracto digestivo, pasando a su través a los tejidos donde se depositan. Por ejemplo, entre los volátiles de la carne se han detectado compuestos fenólicos o terpénicos presentes en las plantas (Vasta y Priolo, 2006; Resconi *et al.*, 2013), o escatol procedente del tracto digestivo, cuya presencia en exceso en carne de cerdo se ha asociado a sabor “a verraco” (Annor-Frempong *et al.*, 1997).

2. Los volátiles de la carne de rumiante

2.1. Principales compuestos volátiles responsables del sabor de la carne de rumiante

Los principales compuestos volátiles detectados en la carne de rumiante (ovino y vacuno), según diversos estudios (Frankel, 1982; Mottram, 1998; Macleod, 2002; Calkins y Hodgen, 2007), provienen de la oxidación de los lípidos y la mayoría pertenecen a las familias químicas de los aldehídos, cetonas, hidrocarburos, alquilfuranos, ácidos, lactonas y compuestos bencénicos como el benzaldehído, ácido benzoico o alquilbenceno. Después, en menor medida, también se detectan volátiles generados de la reacción de Maillard a partir de aminoácidos, péptidos, azúcares, tiamina, como son el 2- y 3-metilbutanal y ciertos compuestos azufrados (aldehídos de Strecker), así como pirroles, pirazinas, furanos, furanonas y tioles.

De entre los compuestos derivados de la degradación lipídica se ha prestado atención especial al efecto que los aldehídos y cetonas ejercen sobre el aroma de la carne de rumiante. Los aldehídos saturados e insaturados que tienen entre 6 y 10 carbonos como el hexanal, heptenal, 2,4-heptadienal y 2,6-nonadienal o 2,4-decadienal, entre otros, podrían estar fuertemente implicados en el aroma de la carne de rumiante teniendo en cuenta sus bajos umbrales de percepción y su concentración en la carne (Mottram, 1998; Elmore *et al.*, 2000; Vasta y Priolo, 2006; Vasta y Priolo, 2006). En general los aromas de estos

compuestos se describen como a hierba, a grasa, a fruta, a frutos secos (Zhan *et al.*, 2013). Elmore *et al.* (2000) indican que el heptenal detectado en carne de ovino se encuentra en una concentración 50 veces mayor a su umbral de detección olfativa. Calkins y Hodgen (2007) mencionan que el hexanal y 2,4-decadienal contribuyen positivamente al sabor de la carne de bovino, pero pueden producir sabores desagradables a altas concentraciones. Por su parte, Frankel (2012) mencionan que los niveles de algunos aldehídos presentes en bajas concentraciones como *cis*-4-heptenal y *trans*-,*trans*-2,6-nonadienal afectan de forma muy significativa al sabor de la carne de bovino.

Las cetonas también contribuyen de forma notoria al sabor de la carne cocinada de rumiantes. Muchas cetonas tienen umbrales de detección suficientemente bajos como para contribuir al aroma de la carne. Ba *et al.* (2012) mencionan que en la carne cocida, las cetonas aportan las siguientes notas aromáticas: 2-octanona, 2-decanona, 2-dodecanona (frutal, humedad), 1-octen-3-ona (fresco, mohos, pungente, goma), 3-octanona (frutal, nueces, mohoso, grasa, tierra), 2,3-butanodiona (dulce, mantequilla), 2-heptanona (cítricos, floral, queso), 2,3-pentanodiona (mantequilla, dulce, frutal), 2-nonanona (leche caliente, jabón, verde, frutal, floral), 3-octen-2-ona (nueces, insectos, tierra, especias, dulce, hongos), 6-metil-2-heptanona (clavo, mentol), 2-undecanona (frutal), 2,2,6-trimetilciclohexanona (menta, acetona). En el estudio de Gorraiz *et al.* (2002) se atribuye a la 2,3-butanodiona, cuya concentración está relacionada con la raza y sexo de los animales, una repercusión en aroma a estofado de la carne asada, aportando notas dulces, a mantequilla y a caramelo.

Por otra parte, en la grasa de ovino, de forma específica, se han detectado ácidos grasos de cadena ramificada (AGCR) de entre 8 y 10 carbonos que están relacionados con el olor característico a ovino mayor (Young y Braggins (1998). Los ácidos grasos de cadena ramificada, 4-metilnonanoico, 4-metil y 4-etil octanoico, se han identificado como los responsables del olor y del sabor a ovino, además se sabe que difieren en su concentración en los diversos tejidos grasos. También los metilfenoles e isopropilfenoles están en la grasa y pueden contribuir al sabor a ovino; estos fenoles podrían tener como origen la lignina, diterpenos o tirosina de la dieta.

Finalmente, cabe también mencionar el papel de los compuestos azufrados, compuestos minoritarios, en el aroma de la carne de rumiante debido

a sus bajos umbrales olfativos (Mottram, 1998); sin embargo, su detección química puede llegar a ser difícil ya que se encuentran en bajas concentraciones, son muy reactivos y se degradan fácilmente (Resconi *et al.*, 2013). Estos compuestos inician su formación con la reacción de Maillard y degradación de Strecker, a partir de los aminoácidos azufrados, glutatión y tiamina (Kerler *et al.*, 2010) y son formados durante la cocción (Resconi *et al.*, 2013). Roldan *et al.* (2015) detectaron cuatro compuestos azufrados en lomos de cordero cocinados *sous vide* a diferentes tiempos y temperaturas. Wilches *et al.* (2011) detectaron dos compuestos azufrados, dimetiltrisulfuro y dipropilsulfuro, en carne de ovino de raza Churra y Castellana producidos en sistemas intensivos y extensivos.

2.2. Factores *premortem* y *postmortem* con efecto en el sabor de la carne de rumiante

Son diversos los factores que afectan a los componentes de la carne implicados en la formación de su aroma y sabor (cantidad de grasa, perfil de ácidos grasos, contenido de sustancias antioxidantes, contenido en glucógeno, etc.). Entre estos factores se encuentran la edad del animal, dieta, raza, sexo, estrés o prácticas culinarias y se pueden agrupar en factores genéticos, de manejo, relativos al sacrificio y conservación de la carne y de preparación culinaria (Almela *et al.*, 2009). A continuación se hablará de los efectos más relevantes tratados en la bibliografía actual.

2.2.1. Efectos genéticos

Los estudios sobre el efecto de la genética sobre el sabor de la carne de rumiante no es claro (Duckett y Kuber, 2001). En algunas investigaciones se ha encontrado que el sabor de la carne está influenciado por aspectos genéticos, detectándose diferencias entre razas, sexo e inclusive en forma individual (Elmore *et al.*, 2000; Gorraiz *et al.*, 2002; Insausti *et al.*, 2002; Elmore *et al.*, 2004; Machiels *et al.*, 2004; Warren *et al.*, 2008). No obstante, Hodgen y Calkins (2012) indican que la raza juega un papel modesto en el sabor de la carne y las diferencias entre razas se atribuyen principalmente a las diferencias en la deposición de grasa y el perfil de ácidos grasos.

Un ejemplo destacable del efecto de la genética sobre la presencia de compuestos volátiles relacionados con el sabor se muestra en la carne de bovino de la raza Negra Japonesa, Wagyu, producida en Kobe, con un alto nivel de

infiltración de grasa y un perfil lipídico característico (Matsuishi *et al.*, 2004; Iida *et al.*, 2014). Los primeros autores compararon los compuestos volátiles de la carne Wagyu con los de carne importada de Australia a Japón, y encontraron mayor cantidad de compuestos volátiles en la carne Wagyu, principalmente en el grupo de lactonas (las cuales producen aromas a coco o melocotón, lo que podría contribuir en parte a la sensación dulce de ésta carne), alcoholes y aldehídos, además de diacetilo y acetoina que tienen aroma a mantequilla (Matsuishi *et al.*, 2004).

2.2.2. Edad de sacrificio

La edad también influye en el sabor. Por ejemplo, el sabor de la carne de un cordero lechal y un ternasco es diferente. La segunda generalmente contiene más grasa intramuscular y de cobertura y un sabor más intenso a cordero. Así mismo, el contenido de ácidos grasos ramificados relacionados con el sabor fuerte a ovino es más elevada en la carne de ovinos mayores (Almela, 2009; Hodgen y Calkins, 2012). Estos autores indican que también en la carne de bovinos se incrementa la intensidad del sabor con la edad y disminuye su aceptabilidad, aunque este efecto puede ser modificado por la alimentación y el sexo de los animales.

2.2.3. Efecto del sistema de producción y de la dieta

Alimentación con forraje vs alimentación con concentrado

El efecto del sistema de alimentación sobre el sabor de la carne de rumiante y específicamente el contraste entre la alimentación basada en concentrado vs forraje, ha sido objeto de numerosos estudios (Melton, 1990; Elmore *et al.*, 2000; Priolo *et al.*, 2001; Duckett y Kuber, 2001; Vasta y Priolo, 2006; Calkins y Hodgen, 2007; Schreurs *et al.*, 2008; Vasta y Luciano, 2011). De acuerdo a Vasta y Priolo (2006) hay una serie de compuestos volátiles en la carne cuya presencia o cantidad depende de la dieta: ácidos grasos ramificados de cadena media, lactonas, ciertos aldehídos, compuestos fenólicos, índoles, la 2,3-octanodiona, los terpenos y algunos compuestos azufrados. Algunos de estos volátiles son directamente incorporados a los tejidos del animal desde los alimentos o el tracto gastrointestinal y otros son producidos durante el cocinado de la carne por degradación lipídica. Además, la dieta también puede afectar los niveles de los

compuestos generados por reacción de Maillard, al modificar la cantidad de azúcares reductores en la carne, que según Koutsidis *et al.* (2008a) pueden estar en mayor cantidad en la carne de animales alimentados con concentrado que en aquellos alimentados con forraje.

El efecto de la alimentación sobre el sabor puede deberse a la influencia que tiene aquella sobre la cantidad y composición de los ácidos grasos de la carne (De Smet *et al.*, 2004; Webb y O'Neill, 2008). En general, la alimentación con pasto y forraje se traduce en un mayor grado de poliinsaturación, mayores niveles de ácido linolénico y menores de linoleico, con respecto a la alimentación con grano (Descalzo *et al.*, 2005, Aurousseau *et al.*, 2007). Así pues, podría esperarse que el mayor grado de poliinsaturación en los lípidos de la carne de animales alimentados con forraje o pasto resultase en una mayor cantidad de compuestos derivados de la oxidación de las grasas (ya que los ácidos grasos poliinsaturados son degradados con mayor facilidad que los monosaturados y saturados). Sin embargo, en diversos estudios se ha encontrado lo contrario. Así, en el estudio de Descalzo *et al.* (2005), los aldehídos, indicadores de la oxidación lipídica, se presentaron en niveles mayores en animales que consumieron concentrado en comparación con aquellos que consumieron pasto. Esta aparente contradicción se explica por una mayor presencia de antioxidantes naturales, principalmente tocoferoles, en la carne de animales que consumen forraje o pasto y en el subsiguiente efecto protector de estos antioxidantes sobre la degradación oxidativa de los lípidos.

Los terpenos son volátiles cuya presencia en carne también depende del sistema de alimentación. Estos volátiles son metabolitos secundarios de las plantas que se originan de la clorofila y están presentes de forma natural en las células vegetales. Los terpenos son moléculas solubles en grasa que se absorben rápidamente en el tracto digestivo, a través del epitelio ruminal (Mote *et al.*, 2008). Su presencia en la carne es un indicativo del consumo de forraje (Vasta y Priolo, 2006; Watanabe *et al.*, 2008; Cheetham, 2010). No obstante, el contenido de terpenos depende de las especies de plantas consumidas, el estado de crecimiento del animal y del manejo del pastoreo (Tornambé *et al.*, 2006). De entre los compuestos terpénicos, los sesquiterpenos parecen ser los compuestos terpénicos que más se ven influidos por la dieta (Serrano *et al.*, 2011).

Al igual que los terpenos, los compuestos fenólicos también tienden a estar en mayores concentraciones en la carne de animales alimentados con más forraje en comparación con aquellos que fueron alimentados con más grano (Vasta y Priolo, 2006). Igualmente, el escatol se ha detectado en mayores concentraciones en carne de bovinos y ovinos que han consumido pasto (Young *et al.*, 2003). El escatol es un compuesto liposoluble que se forma por la acción de microorganismos que degradan el triptófano en el rumen (Vasta y Priolo, 2006). El triptófano es un aminoácido que se presenta en elevada proporción en las hierbas frescas, por lo que su abundancia en el rumen de animales en pastoreo es elevada y por lo tanto su fermentación se ve favorecida (Sheath *et al.*, 2001), aunque la producción ruminal de indoles puede verse disminuida cuando la alimentación contiene taninos (Vasta y Priolo, 2006).

La 2,3-octanodiona es otro compuesto relacionado con el consumo de pasto, ya que se produce en el alimento o en el tracto digestivo del animal por medio de la lipoxigenasa presente en las hojas de las plantas, pero no en las semillas (Young *et al.*, 1997). No obstante, el origen de este compuesto en la carne no solo se debe a su formación enzimática en el alimento o tracto digestivo, sino que también puede ser debido a la degradación del ácido linoleico de los lípidos de la carne durante su calentamiento (Elmore *et al.*, 2002).

En la bibliografía especializada se ha acuñado el término “*pastoral flavour*”, que se podría traducir como “sabor a pasto”, con el fin de definir un sabor característico que a veces se presenta en la carne rumiantes de edad elevada, criados en pastoreo o con alto contenido en forraje, valorado negativamente por los consumidores (Schreurs *et al.*, 2008). La aparición de este sabor viene determinada no solo por la dieta, sino también por la edad, el sexo y la castración (Young *et al.*, 2003). Las causas y compuestos responsables de la aparición de este sabor no están claras. Las notas aromáticas descritas en la carne con *pastoral flavour* han sido las siguientes: a animal, a pasto o a establo (Schreurs *et al.*, 2008; Watkins *et al.*, 2014). Schreurs *et al.* (2008) sugieren que este olor desagradable podría estar relacionado con unos niveles de indol y escatol elevados en carne. Tansawat *et al.* (2013) mencionan que el sabor desagradable en animales alimentados con pasto está correlacionado positivamente con la presencia de algunos volátiles como benzaldehído, tolueno, dimetilsulfona, 3-heptanona, 2-etil-1-hexanol y el metil ester del ácido hexadecanóico. En la carne

de cordero, la frecuencia de detección de olores y sabores desagradables (*pastoral flavour*) se incrementa con el pastoreo de praderas ricas en leguminosas como alfalfa o trébol blanco.

Suplementación de la dieta con grasas y aceites

La utilización de grasas y aceites en la dieta de los animales rumiantes mejora la eficiencia energética de su producción cárnica (Machmüller *et al.*, 2000); sin embargo, la mayoría de la investigación realizada ha sido enfocada a estudiar su efecto sobre la composición de ácidos grasos de la carne, fundamentándose en la conveniencia de conseguir un perfil lipídico con mayor insaturación, más beneficioso para la salud humana (Raes *et al.*, 2004; Webb y O'Neill, 2008). Las principales grasas utilizadas en la alimentación de los rumiantes con la finalidad de modificar la calidad de los lípidos de su carne son los aceites de pescado (Raes *et al.*, 2004; Muiño *et al.*, 2014), lino (Radunz *et al.*, 2009; Muiño *et al.*, 2014; González *et al.*, 2014), girasol (González *et al.*, 2014), palma (Castro *et al.*, 2005; Manso *et al.*, 2006) y soja (Bessa *et al.* 2005; Radunz *et al.*, 2009; González *et al.*, 2014); estos aceites y grasas pueden o no estar encapsulados (Manso *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2012). La encapsulación protege a los ácidos grasos poliinsaturados de su biohidrogenación ruminal.

En relación al efecto del uso de grasas y aceites en la dieta sobre el aroma de la carne, se ha observado que la modificación en el perfil lipídico, ocasionada por la suplementación de la dieta con grasas o aceites, modifica los compuestos volátiles. Por ejemplo, Vasta y Priolo (2006) encontraron que los aceites ricos en AGPI, como los aceites de pescado, incrementan las concentraciones de AGPI en la carne, entre ellos el ácido linolénico, y a su vez, los compuestos volátiles derivados de su oxidación: hexanal, 2-heptanal y 2,4-decadienal. Elmore *et al.* (2005) estudiaron el efecto de la suplementación de la dieta de corderos con aceite de pescado y algas marinas sobre la generación de compuestos volátiles en la carne cocida y concluyeron que las algas y el aceite de pescado incrementan los AGPI, que son deseables desde un punto de vista nutricional, pero desde un punto de vista sensorial la suplementación puede ocasionar defectos en el sabor de la carne en cuanto a la aparición de sabores atípicos o rancios.

Suplementación de la dieta con antioxidantes naturales

La utilización de antioxidantes naturales, como tal, o de plantas o extractos ricos en antioxidantes, en la alimentación de los animales se está abriendo paso como alternativa para mejorar la estabilidad oxidativa de la carne, sin la necesidad de recurrir a la adición directa de antioxidantes sobre la carne (Aouadi *et al.*, 2014). Las plantas contienen diversos metabolitos con propiedades antioxidantes (Vasta y Luciano, 2011; Jayasena y Jo, 2014). Algunos de estas sustancias son el ácido ascórbico, los tocoferoles o los polifenoles, contenidos a niveles elevados en plantas como romero, tomillo, orégano, pimienta, clavo, canela, te, entre otras (Grün, 2009; Brewer, 2011; Shahidi y Zhong, 2010; Jayasena y Jo, 2014).

Probablemente, el antioxidante natural más estudiado recientemente para su inclusión en la dieta de rumiantes es el romero (rico en polifenoles como carnosol, ácido carnósico, rosmanol, epirosmanol, isorosmanol, ácido rosmarinico, rosmaridifeno y rosmariquinona; Yanishlieva *et al.*, 2006), o sus extractos (ricos en carnosol y ácido carnósico). En los trabajos de Nieto *et al.* (2010) y Serrano *et al.* (2014) se prueba que el romero, ya sea en hojas o aceite esencial, puede ser utilizado en la dieta de ovinos, contribuyendo al aumento de la estabilidad oxidativa de su carne. Por otra parte, los estudios de Bañón *et al.* (2012), Moran *et al.* (2012 y 2013), Aouadi *et al.* (2014), Jordan *et al.* (2014) y Ortuño *et al.* (2014) muestran como el uso de extractos de romero en la alimentación de corderos mejora la estabilidad oxidativa de la carne, aunque el efecto es dependiente de la naturaleza del extracto y de la concentración utilizada.

2.2.4. Factores *postmortem*: sacrificio, conservación y cocinado

Diversos factores *postmortem* pueden afectar al sabor de la carne de rumiantes, entre ellos el ambiente alrededor del momento al sacrificio, el tiempo de conservación y la forma de cocinado de la carne. El estrés *antemortem* en los animales provoca que el glucógeno muscular se encuentre en niveles bajos y el pH *postmortem* sea elevado, de forma que el sabor se modifique. Se ha observado como el pH elevado hace que la degradación de cisteína aumente y con ello se favorezca la formación de compuestos azufrados, aunque por el contrario, los aldehídos disminuyen su concentración (Almela *et al.*, 2009).

En la carne de bovino, la maduración de la carne afecta las cantidades de azúcares, ácidos orgánicos, péptidos, aminoácidos libres, metabolitos del ATP y actividad enzimática (Almela *et al.*, 2009; Koutsidis *et al.*, 2008b; Hodgen y Calkins, 2012). La maduración repercute en un aumento del sabor, aunque el sabor de la carne puede perder aceptabilidad con el tiempo. Hodgen y Calkins (2012) indican que las notas aromáticas deseables de la carne de bovino (caldo de carne, caramelo o dulce) tienden a desaparecer a partir de los 16 días de maduración, para dar paso a un aumento en las notas amargas, agrio, a pintura y cartón. Con relación a la carne de ovino la mayor aceptabilidad general se da después de unos días (4-10) de maduración (Martínez-Cerezo *et al.*, 2005; Rivas-Cañedo *et al.*, 2013; Ba *et al.*, 2014).

El método y condiciones de cocinado tienen un marcado efecto sobre el sabor de la carne. Se pueden distinguir los siguientes métodos de acuerdo a la temperatura que se utiliza para su cocinado, entre ellos el asado en horno, cocinado en húmedo usando cocción al vacío, cocción a presión, la fritura o el microondas. El desarrollo del sabor depende principalmente de la temperatura utilizada, el tiempo de cocción y la humedad en el ambiente (Almela *et al.*, 2009). Así por ejemplo, el asado en horno, frente a otros tipos de cocinado, favorece la formación de tiazoles y piridinas, los cuales dan unas notas aromáticas a quemado, asado, tostado, a tierra, acre, picante (Almela *et al.*, 2009).

3. Metodología utilizada para determinar los compuestos volátiles de la carne

La determinación de los compuestos volátiles en la carne presenta diversas circunstancias complejas tales como la presencia de una gran cantidad de compuestos, pertenecientes a diversas familias químicas, con concentraciones dispares, con extrema volatilidad para algunos e inestabilidad en el caso de otros.

El primer paso para analizar los compuestos volátiles de la carne es su extracción. Son diversas las técnicas empleadas y cada una tiene sus ventajas e inconvenientes (Blanch *et al.*, 1993; Wampler, 2005; Almela *et al.*, 2009). El segundo paso es la separación, detección y cuantificación, que comúnmente se realiza por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (Hussain y Maqbool, 2014).

Las formas más clásicas de extraer volátiles de la carne, hoy en su mayoría poco utilizadas, consisten en la extracción con disolventes, la destilación y la extracción-destilación simultáneas (Blanch *et al.*, 1993; Almela *et al.*, 2009). Las técnicas de extracción más utilizadas hoy en día están fundamentadas en el análisis de los volátiles liberados en el espacio de cabeza (Guth y Grosch, 1994; Ruiz *et al.*, 1998; Elmore *et al.*, 2000; Carrapiso *et al.*, 2002; Machiels e Istasse, 2002; Almela *et al.*, 2009). Las técnicas que emplean el espacio de cabeza se pueden dividir básicamente en dos: espacio de cabeza estático y dinámico (Wampler, 2002).

En las metodologías donde se emplea el espacio de cabeza estático se puede proceder a la inyección directa del gas del espacio de cabeza. En este caso, la muestra se coloca en un vial cerrado a una temperatura adecuada, se espera a que se alcance un equilibrio entre el alimento y el espacio de cabeza, para posteriormente extraer e inyectar un volumen de ese gas en el cromatógrafo, directamente a la columna, por medio de una jeringa. Las principales ventajas de esta técnica son que no se utilizan solventes, se puede automatizar fácilmente, tiene un bajo costo y la preparación de la muestra es sencilla; por el contrario, la cantidad de compuesto volátil extraído es relativamente pequeña (la concentración en el espacio de cabeza es baja) (Wampler, 2002).

Por otra parte, la técnica de espacio de cabeza estático puede ser modificada introduciendo el sistema de microextracción en fase sólida (SPME). Este sistema utiliza una jeringa en cuya aguja se encuentra una fibra retráctil de sílice fundida recubierta de un material adsorbente, que puede ser de distinta naturaleza, más o menos polar, en función de los componentes que se quieran extraer. La aguja de la fibra recubierta se introduce en el vial con la muestra y se expone al espacio de cabeza hasta que los volátiles alcancen un equilibrio químico con el material adsorbente. Posteriormente, el dispositivo es introducido en el inyector del cromatógrafo por medio de la jeringa y la desorción de los compuestos volátiles se lleva a cabo por la elevada temperatura existente en el puerto de inyección (Almela *et al.*, 2009). La ventaja de la técnica de SPME con respecto a la inyección directa del gas del espacio de cabeza es que en el primero se produce una concentración de los compuestos volátiles en el material absorbente que permite la inyección de mayores cantidades de volátiles. Sin

embargo, como desventaja, los compuestos extraídos difieren en concentración con respecto a la concentración del espacio de cabeza, ya que en la fibra se produce un equilibrio que favorece la absorción de unos compuestos frente a otros.

En el espacio de cabeza dinámico se emplea una corriente de gas inerte que arrastra los compuestos aromáticos desde la muestra a una trampa, que es un material adsorbente donde se quedan atrapados los compuestos volátiles que proceden del alimento (Wampler, 2002). En esta técnica es importante controlar el tamaño o grado de picado de la muestra, la temperatura de la muestra y de la trampa, además del flujo del gas y el tiempo de purga (Almela *et al.*, 2009). Esta metodología es la que permite la extracción de mayor cantidad de compuestos volátiles de la muestra (Wampler, 2005).

El efecto del método de extracción sobre el perfil volátil de la carne ha sido descrito en diversos estudios. Por ejemplo, Madruga *et al.* (2009) encontraron diferencias en los volátiles de la carne cuando se compararon la extracción con espacio de cabeza dinámico con Tenax, el espacio de cabeza estático con SPME y la extracción destilación con solventes. Así, donde se obtuvo el mayor número de compuestos fue con extracción destilación con solventes; no obstante, los métodos con SPME y Tenax extrajeron mejor los compuestos con pesos moleculares más bajos. También en el trabajo de Watkins *et al.* (2012) se compararon las técnicas de SPME y extracción-destilación simultánea (SDE) en grasa de ovino y bovino, detectando en grasa de ovino 74 y 67 compuestos con SPME y SDE, respectivamente, mientras que en las muestras de grasa de bovino se detectaron 89 compuestos con SPME y 55 con la técnica SDE. Los autores indican que tanto en la grasa de bovino como la de ovino, con SPME se detectó una mayor proporción de ácidos y una menor proporción de aldehídos que con la técnica SDE. Machiels e Itsasse (2003) probaron diferentes recubrimientos de fibras de SPME: CAR-PDMS y DVB-CAR-PDMS y concluyeron que con ambas fibras se obtienen buenos resultados, aunque la fibra DVB-CAR-PDMS es más sencilla de usar, sensible, selectiva, rápida y de menor costo para evaluar los compuestos volátiles de carne de bovino cocinada.

4. Bibliografía

- Almela, E., Jordan, M.J., Martínez, C., Sotomayor, J.A., Bedia, M., Bañón, S. (2010). Ewe's diet (pasture vs grain-based feed) affects volatile profile of cooked meat from light lamb. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58,9646-9641.
- Almela, E., Jordán, M.J., Martínez, C., Sotomayor, J.A., Bedia, M., Bañón, S. (2009). El flavor de la carne cocinada de cordero. *Eurocarne*, 178,1-12.
- Ames, J.M., Guy, R.C.E., Kipping, G.J. (2001). Effect of pH and temperature on the formation of volatile compounds in cysteine/reducing sugar/starch mixtures during extrusion cooking. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 49,1885-1894.
- Annor-Frempong, I.E., Nute, G.R., Whittington, F.W., Wood, J.D. (1997). The problem of taint in pork: 1. Detection thresholds and odor profiles of androstenone and skatole in a model system. *Meat Science*, 46,45-55.
- Aouadi, D., Luciano, G., Vasta, V., Nasri, S.N., Brogna, D.M.R., Abidi, S., Priolo, A., Salem, H.B. (2014). The antioxidant status and oxidative stability of muscle from lambs receiving oral administration of *Artemisia herba alba* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Meat Science*, 97,237-243.
- Aurousseau, B., Bauchart, D., Faure, X., Galot, A.L., Prache, S., Micol, D., Priolo, A. (2007). Indoor fattening of lambs raised on pasture: (1) Influence of stall finishing duration on lipid classes and fatty acids in the *Longissimus thoracis* muscle. *Meat Science*, 76,241-252.
- Ba, H.U., Park, K., Dashmaa, D., Hwang, I. (2014). Effect of muscle type and vacuum chiller ageing period on the chemical compositions, meat quality, sensory attributes and volatile compounds of Korean native cattle beef. *Animal Science Journal*, 85,164-173.
- Bañón, S., Méndez, L., Almela, E. (2012). Effects of dietary rosemary extract on lamb spoilage under retail display conditions. *Meat Science*, 90,579-583.
- Barriuso, B., Astiasaran, I., Ansorena, D. (2013). A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task. *European Food Research and Technology*, 236,1-15.
- Bessa, R.J.B., Portugal, P.V., Mendes, I.A., Santos-Silva, J. (2005). Effect of lipid supplementation on growth performance, carcass and meat quality and

- fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs fed dehydrated lucerne or concentrate. *Livestock Production Science*, 96,185-194.
- Blanch, G.P., Tabera, J., Heraiz, M., Reglero, G. (1993). Preconcentration of volatile components of foods: optimization of the steam distillation-solvent, extraction at normal pressure. *Journal of Chromatography*, 628,261-268.
- Brewer, M.S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10,221-247.
- Calkins, C.R., Hodgen J.M. (2007). A fresh look at meat flavor. *Meat Science*, 77,63-80.
- Carrapiso, A. I., Ventanas, J., García, C. (2002). Characterisation of the most odor-active compounds of Iberian ham headspace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50,1996-2000.
- Castro, T., Manso, T., Mantecon, A.R., Guirao, J., Jimeno, V. (2005). Fatty acid composition and carcass characteristics of growing lambs fed diets containing palm oil supplements. *Meat Science*, 69,757-764.
- Cheetham, P.S.J. (2010). Natural sources of flavours. In: *Food flavor technology*. (Eds.) A.J. Taylor and R.S.T. Linforth. Wiley-Blackwell. Oxford, Reino Unido, pp.,127-175.
- De Smet, S., Raes, K., Demeyer, D. (2004). Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. *Animal Research*, 53,81-98.
- Descalzo, A.M., Insani, E.M., Biolatto, A., Sancho, A.M., García, P.T., Pensel, N.A., Josifovich, J.A. (2005). Influence of pasture or grain-diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 70,35-44.
- Duckett, S.K., Kuber, P.S. (2001). Genetic and nutritional effects on lamb flavor. *Journal of Animal Science*, 79,E249-E254.
- Echavarría, P., J. Pagán, J., Ibarz, A. (2012). Melanoidins Formed by Maillard Reaction in Food and Their Biological Activity. *Food Engineering Reviews*, 4,203-223.
- Elmore, J.S., Campo, M.M., Enser, M., Mottram, D.S. (2002). The effect of lipid composition on meat-like model systems containing cysteine, ribose and

- polyunsaturated fatty acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50,1126-1132.
- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Enser, M., Wood, J.D. (2000). The effects of diet and breed on the volatile compounds of cooked lamb. *Meat Science*, 55, 149-159.
- Elmore, J.S., Warren, H.E., Mottram, D.S., Scollan, N.D., Enser, M., Richardson, R. I., Wood, J.D. (2004). A comparison of the aroma volatiles and fatty acid compositions of grilled beef muscle from Aberdeen Angus and Holstein-Friesian steers fed diets based on silage or concentrates. *Meat Science*, 68,27-33.
- Elmore, J.S., Cooper, S.L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Wood, J.D. (2005). Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science*, 69,233-242.
- Frankel, E.N. (1982). Volatile lipid oxidation products. *Progress in Lipid Research*, 22,1-33.
- Gandamer, G. (2002). Lipid in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62,309-321.
- González, L., Moreno, T., Bispo, E., Dugan, M.E.R., Franco, D. (2014). Effect of supplementing different oils: Linseed, sunflower and soybean, on animal performance, carcass characteristics, meat quality and fatty acid profile of veal from “Rubia Gallega” calves. *Meat Science*, 96,829-836.
- Gorraiz, C., Berian, M.J., Chasco, J., Insausti, K. (2002). Effect of aging time on volatile compounds, odor, and flavor of cooked beef from Pirenaica and Friesian bulls and heifers. *Journal of Food Science*, 67,916-922.
- Grün, I.U. (2009). Antioxidants. In: *Ingredients in Meat Products*. Ed. R. Tarté. Springer Science. New York, NY. EEUU, pp.,291-300.
- Guth, H., Grosch, W. (1994). Identification of character impact odorants of stewed beef juice by instrumental analyses and sensory studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42,2862-2866.
- Hartman, G.J., Scheide, J.D., Ho, C.T. (1984). Effect of water activity on the major volatiles produced in a world system approximating cooked meat. *Journal of Food Science*, 49,607-613.

- Hidalgo, F.J., Zamora, R. (2005). Interplay between the Maillard reaction on lipid peroxidation in biochemical systems. *Annals New York Academic Science*, 1043,319-326.
- Hodgen, J.M., Calkins, C.R. (2012) Red meat flavor. In: Food flavors, chemical, sensory and technological properties. Ed. H. Jelen. CRC Press. Boca Raton, FL. EEUU, pp.,253-268.
- Hussain, S.Z., Maqbool, K. (2014). GC-MS: Principle, Technique and its application in Food Science. *International Journal of Current Science*, 13,116-126.
- Iida,F. Saitou,K., Kawamura,T. Yamaguchis., Nishimura, T. (2014). Effect of fat content on sensory characteristics of marbled beef from Japanese Black steers. *Animal Science Journal*, en prensa. DOI: 10.1111/asj.12342.
- Insausti, K., Beriain, M.J., Gorraiz, C., Purroy, A. (2002). Volatile compounds of raw beef from 5 local spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. *Journal of Food Science*, 67,1580-1589.
- Jayasena, D.D., Jo, C. (2014). Potential Application of Essential Oils as Natural Antioxidants in Meat and Meat Products: A Review. *Food Reviews International*, 30,71-90.
- Jordán, M.J., Castillo, J., Bañón, S., Martínez-Conesa, C., Sotomayor, J.A. (2014). Relevance of the carnosic acid/carnosol ratio for the level of rosemary diterpene transfer and for improving lamb meat antioxidant status. *Food Chemistry*, 151,212-218.
- Kerler, J., Winkel, C., Davidek, T., Blank, I. (2010). Basic chemistry and process conditions for reaction flavours with particular focus on Maillard-type reactions. In: Food flavor technology. (Eds.) A.J. Taylor and R.S.T. Linforth. Wiley-Blackwell. Oxford, Reino Unido, pp.,51-81.
- Koutsidis, G., Elmore, J.S., Oruna-Concha, M.J., Campo, M.M., Wood, J.D., Mottram, D.S. (2008a). Water-soluble precursors of beef flavor. Part I. Effect of diet and breed. *Meat Science*, 79,124-130.
- Koutsidis, G., Elmore, J.S., Oruna-Concha, M.J., Campo, M.M., Wood, J.D., Mottram, D.S. (2008b). Water-soluble precursors of beef flavor. Part II. Effect of postmortem conditioning. *Meat Science*, 79,270-277.

- Lee K.G., Shibamoto T. (2002). Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50,4947-52.
- Machiels, D., Istasse, L. (2002). Solid phase microextraction for the isolation of volatile flavour compounds in cooked beef meat. In *Proceedings of the 48th International Congress of Meat Science and Technology*, vol.1. Rome, Italia, pp.,262-263.
- Machiels, D., Istasse, L., van Ruth, S.M. (2004). Gas chromatography-olfactometry analysis of beef meat originating from differently fed Belgian Blue, Limousin and Aberdeen Angus bulls. *Food Chemistry*, 86,377-383.
- Machmüller, A., Ossowski, D.A., Kreuzer, M. (2000). Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 85,41-60.
- Macleod, G. (1998). The flavor of beef. In: *Flavor of meat, meat products and seafoods*. Ed. F. Shahidi. 2nd edition. Blackie Academic and Professional. Suffolk, Reino Unido. Pp. 27-56.
- Madruga, M.S., Elmore, J.S., Dodson, A.T., Mottram, D.S. (2009). Volatile flavor profile of goat meat extracted by three widely used techniques. *Food Chemistry*, 115,1081-1087.
- Manso, T., Castro, T., Mantecón, A.R., Jimeno, V. (2006). Effects of palm oil and calcium soaps of palm oil fatty acids in fattening diets on digestibility, performance and chemical body composition of lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 127,175-186.
- Martínez-Cerezo, S., Sañudo, C., Panea, B., Olleta, J.L., (2005). Breed, slaughter weight and ageing time effects on consumer appraisal of three muscles of lamb. *Meat Science*, 69,797-805.
- Martins, S.I.F.S., Jongen, W.M.F., van Boekel, M.A.J.S. (2000). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science and Technology*, 11,364-373.
- Matsuishi, M., Kume, J., Itou, Y., Takahashi, M., Arai, M., Nagatomi, H., Watanabe, K., Hayase, F., Okitani, A. (2004). Aroma Components of Wagyu Beef and Imported Beef. *Nihon Chikusan Gakkaiho*, 75,409-415.

- Melton S.L. (1990) Effects of feeds on flavour of red meat: a review. *Journal of Animal Science*, 68,4421-4435.
- Meynier, A., Mottram, D.S. (1995). The effect of pH on the formation of volatile compounds in meat-related model systems. *Food Chemistry*, 52,361-366.
- Morán, L., Andrés, S., Bodas, R., Prieto, N., Giráldez, F.J. (2012). Meat texture and antioxidant status are improved when carnosic acid is included in the diet of fattening lambs. *Meat Science*, 91,430-434.
- Morán, L., Giráldez, F.J., Panseri, S., Aldai, N., Jordán, M.J., Chiesa, L.M., Andrés, S. (2013). Effect of dietary carnosic acid on the fatty acid profile and flavour stability of meat from fattening lambs. *Food Chemistry*, 138,2407-2414.
- Mote, T.E., Villalba, J.J., Provenza, D. (2008). Sequence of food presentation influences intake of foods containing tannins and terpenes. *Applied Animal Behaviour Science*, 113,57-68.
- Mottram, D.S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62,415-424.
- Muñoz, I., Apeleo, E., de la Fuente, J., Pérez-Santaescolástica, C., Rivas-Cañedo, A., Pérez, C., Díaz, M.T., Cañeque, V., Lauzurica, S. (2014). Effect of dietary supplementation with red wine extract or vitamin E, in combination with linseed and fish oil, on lamb meat quality. *Meat Science*, 98,116-123.
- Nawar, W.W. (2000). Lípidos. En: *Química de Alimentos*. Ed. O.R. Fennema. Ed. Acribia. Zaragoza, España, pp.,270-376.
- Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., Garrido, M.D. (2010). Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): Influence on lamb meat quality. *Meat Science*, 84,23-29.
- Oliveira, E.A., Sampaio, A.A.M., Henrique, W., Pivaro, T.M., Rosa, B.L., Fernandes, A.R.M., Andrade, A.T. (2012). Quality traits and lipid composition of meat from Nellore young bulls fed with different oils either protected or unprotected from rumen degradation. *Meat Science*, 90,28-35.
- Ortuño, J., Serrano, R., Jordán, M.J., Bañón, S. (2014). Shelf life of meat from lambs given essential oil-free rosemary extract containing carnosic acid plus carnosol at 200 or 400 mg kg⁻¹. *Meat Science*, 96,1452-1459.

- Pegg, R.B., Shahidi, F. (2004). Heat effects on meat: Flavour development. In: (Eds.) W.K. Jensen. Encyclopedia of Meat Sciences, Elsevier Ltd. Amsterdam, Holanda, pp.,570-578.
- Priolo, A., Micol, D., Agabriel, J. (2001). Effects of grass feeding systems on ruminant meat color and flavor: A review. *Animal Research*, 50,185-200.
- Radunz, A.E., Wickersham, L.A., Loerch, S.C., Fluharty, F.L., Reynolds, C.K., Zerby, H.N. (2009). Effects of dietary polyunsaturated fatty acids supplementation on fatty acid composition in muscle and subcutaneous adipose tissue of lambs. *Journal of Animal Science*. 87,4082-4091.
- Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D. (2004). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 113,199-221.
- Resconi, V.C., Escudero, A., Campo, M.M. (2013). The development of aromas in ruminant meat. *Molecules*, 18,6748-6781
- Rivas-Cañedo, A., Apeleo, A., Muino, I., Perez, C., Lauruzica, S., Cristina, P.S., Diaz, M.T., Caneque, V., de la Fuente, J. (2013). Effect of dietary supplementation with red wine extract or vitamin E on the volatile profile of lamb meat fed omega-3 source. *Meat Science*, 93,178–186.
- Roldan, M., Ruiz, J., Sanchez del Pulgar, J., Perez-Palacios, T., Antequera, T. (2015). Volatile compounds profile of sous-vide cooked lamb lions at different temperatura-time combinations. *Meat Science*, 100,52-57.
- Ruiz, J., Cava, R., Ventanas, J., Jensen, M. (1998). Headspace SPME for the analysis of volatiles in a meat product: dry-cured iberian ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4688–4694.
- Schreurs, N.M., Lane, G.A., Tavendale, M.H., Barry, T.N., McNabb, W.C. (2008). Pastoral flavor in meat products from ruminants fed fresh forages and its amelioration by forage condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 146,193-221.
- Seo, H.S., Hummel, T. (2012). Smell, taste and flavor. In: Food Flavors, Chemical, Sensory and Technological Properties. Ed. H. Jelen. CRC Press. Boca Raton, FL. EEUU, pp.,35-64.

- Serrano, E., Cornu, A., Kondjoyan, N., Agabriel, J., Micol, D. (2011). Traceability of grass feeding in beef: terpenes, 2,3- octanedione and skatole accumulation in adipose tissue of young bulls. *Animal*, 5,641-649.
- Serrano, R., Jordán, M.J., Bañón, S. (2014). Use of dietary rosemary extract in ewe and lamb to extend the shelf life of raw and cooked meat. *Small Ruminant Research*, 116,144-152.
- Shahidi, F. (1994). Flavor of meat and meat products-an overview. In: (Eds) F. Shahidi. *Flavor of Meat and Meat Products*. London: Blackie Academic and Professional. Suffolk, Reino Unido, pp.,1-4.
- Shahidi, F., Zhong, Y. (2010). Novel antioxidants in food quality preservation and health promotion. *European Journal Lipid Science and Technology*, 112, 930-940.
- Sheath, G.W., Coulon, J.B., Young, O.A. (2001). Grassland management and animal product quality. *Proceedings of the International Grasslands Congress*. Sao Paulo, Brasil, pp.,1019-1026.
- Tansawat R., Maughan C.A.J., Ward R.E., Martini S., Cornforth D.P. (2013) Chemical characterisation of pasture- and grain-fed beef related to meat quality and flavour attributes. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 484-495.
- Thorpe, S.R., Baynes, J.W. (2003). Maillard reaction products in tissue proteins: New products and new perspectives. *Amino Acids*, 25,275-281.
- Tornambé G., Cornu A., Pradel P., Kondjoyan N., Carnat A. P., Petit M., Martin B. (2006). Changes in terpene content in milk from pasture-fed cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 2309-2319.
- van Boekel, M.A.J.S. (2006). Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. *Biotechnology Advances*, 24,230-233.
- Vasta, V., Luciano, G. (2011). The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Ruminant Research*, 101,150–159.
- Vasta, V., Priolo, A. (2006). Ruminant fat volatiles as affected by diet. A review. *Meat Science*, 73, 218-228.
- Wampler, T.P. (2002). Analysis of food volatiles using head-space-gas chromatographic techniques. In: *Flavor, fragrance and odor analysis*. (Ed.) R. Marsili. Marcel Dekker Inc. New York, NY. EEUU, pp.,25-55.

- Warren, H.E., Scollan, N.D., Nute, G.R., Hughes, S.I., Wood, J.D., Richardson, R.I. (2008). Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. II: Meat stability and flavor. *Meat Science*, 78,270-278.
- Watanabe, A., Ueda, Y., Higuchi, M., Shiba, M. (2008). Analysis of volatile compounds in beef fat by dynamic-headspace solid phase microextraction combined with gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Food Science*, 73,C420-C425.
- Watkins, P.J., Kearney, G., Rose, G., Allen, D., Ball, A.J., Pethick, D.W., Warner, R.D. (2014). Effect of branched-chain fatty acids, 3-methylindole and 4-methylphenol on consumer sensory scores of grilled lamb meat. *Meat Science*, 96,1088-1094.
- Watkins, P.J., Rose, G., Warner, R.D., Dunshea, F.R., Pethick, D.W. (2012). A comparison of solid-phase microextraction (SPME) with simultaneous distillation-extraction (SDE) for the analysis of volatile compounds in heated beef and sheep fats. *Meat Science*, 91,99-107.
- Webb, E.C., O'Neill, H.A. (2008). The animal fat paradox and meat quality. *Meat Science*, 80,28-36.
- Wilches, D., Rovira, J., Jaime, I., Palacios, C., Lurueña-Martinez, M.A., Vivar-Quintana, A.M., Revilla, I. (2011). Evaluation of the effect of a maternal rearing system on the odour profile of meat from suckling lamb. *Meat Science*, 88,415-423.
- Yanishlieva, N.V., Marinova, E., Pokorny, J. (2006). Natural antioxidant from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108,776-793.
- Young, O.A., Berdague, J.L., Viallon, C., Rousset-Akrim, S., Theriez, M. (1997). Fat-borne volatile and sheepmeat odour. *Meat Science*, 45,183-200.
- Young, O.A., Braggins, T.J. (1998). Sheepmeat odor and flavour. In: *Flavor of meat, meat products and seafoods*. Ed. F. Shahidi. 2nd edition. Blackie Academic and Professional. Suffolk, Reino Unido, pp.,101-130.
- Young, O.A., Lane, G.A., Priolo, A., Fraser, K. (2003). Pastoral and species flavor in lambs raised on pasture, Lucerne or maize. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 83,93-104.

- Zamora, R., Hidalgo, F.J. (2005). Coordinate contribution of lipid oxidation and Maillard to the nonenzymatic food browning. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45,49-59.
- Zhan, P., Tian, H., Zhang, X., Wang, L. (2013). Contribution to aroma characteristics of mutton process flavor from the enzymatic hidrolysate of sheep bone protein assessed by descriptive sensory analysis and gas chromatography olfactometry. *Journal of Chromatography B*, 921-922,1-8.

CAPÍTULO 2

CAPÍTULO 2

EFECTO DEL USO DE PENCA DE Maguey (*Agave salmiana*) EN EL COCINADO DE LA CARNE DE OVINO SOBRE SU PERFIL VOLÁTIL

Resumen

La barbacoa de ovino es un plato tradicional típico en el centro de México cuya preparación se realiza principalmente de forma tradicional. Este alimento se prepara en un horno bajo tierra. En su elaboración se utiliza, además de la carne de cordero, penca de maguey como ingrediente característico. El presente estudio se enfoca en la evaluación del efecto del uso de maguey en la elaboración de barbacoa sobre el perfil volátil de la carne. Concretamente, a través de ensayos a nivel de planta piloto, se ha evaluado la posible influencia de la penca del maguey sobre los componentes volátiles de la carne de ovino cocinada. Se han planteado tres experimentos. Un experimento preliminar en el que se evaluó el efecto de un extracto acuoso obtenido de la penca de maguey sobre la estabilidad oxidativa de los lípidos de la carne. El extracto se mezcló con carne picada en distintas cantidades y la mezcla se cocinó y almacenó a refrigeración. El grado de oxidación se determinó midiendo las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. Los resultados se contrastaron con los de una mezcla de carne con ácido ascórbico. El experimento principal consistió, por una parte en el estudio de los compuestos volátiles de las pencas de maguey asadas antes y después de su cocinado y, además, en la determinación de los compuestos volátiles del espacio de cabeza de la carne de ovino previamente cocinada en planta piloto, usando o no pencas de maguey en el cocinado.

El extracto acuoso de maguey mostró efecto protector frente a la oxidación de la carne picada, que aumentó con la cantidad de extracto utilizada, pero que no superó al efecto del ácido ascórbico. Se detectaron 18 compuestos volátiles en el espacio de cabeza de las pencas de maguey, fundamentalmente aldehídos, compuestos bencénicos y terpenos, cuya presencia disminuyó con el cocimiento. El uso de maguey en contacto con la carne mostró un efecto estabilizador de la degradación lipídica de la grasa subcutánea durante el cocinado de la carne. Sin embargo, en el interior de las piezas de carne, en el músculo, no se detectó efecto protector. Con la técnica de espacio de cabeza no se observó que el maguey como ingrediente de contacto en la cocción de la carne aportara ningún

componente volátil específico al perfil volátil de la carne cocinada recubierta con maguey.

1. Introducción

1.1. Generalidades sobre la producción y consumo de carne de ovino en México

Los ovinos domésticos tienen su origen (que data de hace varios miles de años) fundamentalmente en el muflón asiático (*Ovis orientalis orientalis*), aunque también se contempla la implicación de otras especies salvajes del género *Ovis*, como el urial (*Ovis orientalis vignei*) y el argali (*Ovis ammon*), oriundos de las montañas asiáticas y el muflón (*Ovis orientalis musimon*) euroasiático (De Lucas y Arbiza, 1996; Hiendleder *et al.*, 2002). Actualmente, las razas de ovino doméstico (*Ovis orientalis aries*) están ampliamente distribuidas por el mundo, habiendo llegado a América de manos de los colonizadores provenientes de la Península Ibérica.

En el año de 2010, México ocupó el lugar número de 38 entre los países productores de ganado ovino en cuanto a número de animales (8.105.560 cabezas de ganado), siendo los países con mayor número de animales China, Australia, India, Irán y Sudan (FAOSTAT, 2013). En cuanto a la producción de carne de esta especie, México ocupó el lugar 31 a nivel mundial con 54.966 t de carne ovina (FAOSTAT, 2013).

La Figura 1, que recoge el inventario ganadero de ovinos en México (SIACON, 2012), muestra como la cabaña nacional era mayor a los 8 millones de cabezas. Por otra parte, la Figura 2 se muestra la evolución en la producción de carne de ovino en los últimos 6 años (SIACON, 2012) – la producción de ovino en México representa aproximadamente el 1% de toda la producción de carnes. Cabe señalar que el número de animales y la producción de carne se incrementaron en más de un 10% durante los últimos seis años. A pesar de que se ha incrementado la producción, solo se cubre alrededor del 60% de la demanda de carne de ovino en el país.

El tipo de ovino de carne que predomina en el país es el criollo, con cara negra, proveniente de cruces con Suffolk y Hampshire. Además de estas dos razas, hay dos razas de aptitud cárnica, la raza Pelibuey y la Dorset que también son relevantes (De Lucas y Arbiza, 1996; Anónimo, 2009). Existen también otras razas como Rambouillet, Poll Dorset, Columbia, Merino, Polypay, Ile de France,

Charollais, Corriedale, Rideau Arcott, East Friesan, Romanov, Texel, Dorset Down Blackbelly (Barbados), Saint Croix, Dorper, Damara y Katahdin (Cuellar, 2007). Cabe mencionar que los animales de la raza Pelibuey (también llamada Tabasco) originalmente se criaron en los trópicos mexicanos, y que actualmente se encuentran en casi todos los estados del territorio nacional, ocupando el 25% del total del inventario de ganado ovino en México. Las grandes ventajas que observan los ovinocultores con esta raza de pelo son, entre otras, rusticidad para el pastoreo, alta prolificidad y evitarse el esquileo de los animales.

Las zonas productoras de ovino de carne se concentran principalmente en los estados de México, Hidalgo, Puebla y Querétaro, con un clima frío-templado, con temperatura media aproximada de 14 °C y precipitaciones algo superiores a los 600 mm. De acuerdo a SIACON (2012) en la región centro de México se produce el 40,7% de los ovinos, siendo los principales productores el Estado de México e Hidalgo. En este último estado el inventario ganadero se ha incrementado en más de un 25% en los últimos diez años, lo cual lo ha convertido en el segundo estado productor de ovinos en el país, produciendo por arriba del 10% de la producción nacional.

El consumo per cápita anual de carne de ovino en el año 2010 estuvo en torno a 1 kg (Sánchez, 2010). Este consumo está asociado de manera principal a dos platillos tradicionales: la barbacoa y los mixiotes (Cuellar, 2007). Cuellar (2007) asevera que una gran parte del consumo de la carne de ovino en México, casi el 95%, es a través de barbacoa. Ésta es considerada como una preparación culinaria resultado del cocinado de la canal ovina cubierta por pencas de maguey en horno subterráneo (ver punto siguiente). La barbacoa se consume normalmente fuera del hogar durante los fines de semana, en los estados del centro de México (Distrito Federal, Estado de México, Hidalgo, Puebla, Tlaxcala), y es también uno de los componentes del menú ofrecido en los eventos sociales.

1.2. La barbacoa de ovino

La barbacoa de ovino, comúnmente llamada en México barbacoa de borrego, es una comida tradicional que probablemente surgió en Hidalgo o Tlaxcala. Aunque de origen posterior a la conquista (Peña, 2008), es el resultado de la fusión de las tradiciones culinarias de las culturas prehispánicas (cocinar carne bajo tierra envuelta en hojas de maguey) e Ibérica (consumo de carne de ovino). Su elaboración consiste en la cocción de la carne en un hoyo en la tierra,

a vapor, cubierta con pencas de maguey (*Agave salmiana*) y con la adición de ingredientes específicos (Gay, 2001). El proceso es laborioso y bien organizado. El maguey es el principal complemento y se dice que tiene gran importancia en el sabor que finalmente tendrá la carne. Junto a la carne al preparar barbacoa se obtiene también un caldo conocido como consomé.

El proceso artesanal de elaboración de barbacoa de borrego se ha descrito por Ávila *et al.* (1988) y Gay (2001). La preparación de barbacoa de ovino en forma tradicional en la mayoría de los casos se realiza en un recinto al aire libre, por lo general un patio con piso de tierra, aunque también existen lugares que están provistos de techo y piso, que puede ser de ladrillo, como se puede observar en la Figura 3.

Figura 3. Localización de un horno para elaborar barbacoa en forma tradicional.

El proceso se inicia con la excavación de un hoyo de entre 0,80 y 1 m de profundidad y con un diámetro de 60-80 cm. El hoyo es llenado hasta su tercera parte con piedras o ladrillos. Posteriormente, se hace un fuego dentro el hoyo con alrededor de 40 o 60 kg de leña. Cuando la leña se convierte en carbón o brasas se recubren las paredes del hoyo con pencas de maguey que han sido previamente asadas. El asado de las hojas de maguey, se realiza de la siguiente manera: las hojas se colocan sobre una fogata a fuego directo hasta que las pencas se tornan de color amarillento por fuera, posteriormente y con ayuda de un trapo se limpian de restos quemados.

Sobre las brasas, dentro del hoyo (horno) y rodeado por las pencas, se coloca un recipiente metálico con agua, y a veces pulque o cerveza, de un diámetro de aproximadamente 40 cm y se agregan ingredientes vegetales (arroz, garbanzos, patatas, zanahorias, chile, ajo, cebolla, etc.). Sobre el recipiente se coloca una rejilla metálica que ayudará a sostener las piezas de carne de ovino. Las piezas de ovino consisten generalmente en toda la canal troceada, incluyendo los estómagos del cordero que se rellenan con otras vísceras limpias, picadas y sazonadas con chiles anchos, hierbas y sal. Posteriormente se cubre la carne con la parte superior de las hojas de maguey que se encontraban alrededor del horno, luego se colocan más hojas encima de la carne hasta cubrirla completamente (Figura 4), al final se colocan a modo de tapadera costales mojados o laminas metálicas, que a su vez se cubren con tierra y se pueden poner brasas encima de la tierra. El tiempo de cocción de la barbacoa bajo la tierra puede ser entre 10 a 14 h (Peña, 2008). Después de dicho tiempo, se procede a retirar la tierra que cubre el horno, se quitan los costales o láminas y una a una las hojas de maguey. Cuando la carne queda al descubierto se sala la barbacoa a medida que se van retirando las piezas. Finalmente, se saca del hoyo el recipiente con el consomé.

Por su parte, Cuellar (2006) menciona que para la elaboración de la barbacoa se pueden emplear canales de diversas calidades, incluyendo aquellas provenientes de corderos, sementales y ovejas, pudiéndose obtener con todas ellas una buena barbacoa. No obstante, señala que hay una ventaja de usar corderos justificada en un incremento en el rendimiento y en la homogeneidad de la barbacoa elaborada. De acuerdo con diversos barbacoyeros de la zona de Hidalgo y Puebla (comunicación personal), la mejor barbacoa se obtiene con borregos con un grado de engrasamiento medio, con un peso vivo de 40-45 kg, de 6-8 meses de edad y de raza criolla (cara negra).

Figura 4. Preparación de barbacoa de ovino en forma tradicional.

Existe poca información científica sobre la barbacoa de borrego. Rubio *et al.* (2004) realizaron un estudio de comparación de la calidad de la carne de diferentes genotipos de borregos Pelibuey, Pelibuey x Suffolk y carne de canales importadas de Australia, así como de la calidad sensorial de la barbacoa producida con esos borregos, concluyendo que el genotipo no tuvo un efecto sobre la palatabilidad de la barbacoa en cuanto a sabor, aroma y terniza. En el estudio realizado por Peña (2008) para el Gobierno del Estado de Hidalgo se describe el proceso artesanal de fabricación de barbacoa, incluyendo algunos aspectos de intercambio de calor y se propone un sistema tecnificado de producción de barbacoa de borrego. En este estudio se determinó la composición de la barbacoa y otras características de calidad de la misma (Tabla 1).

El proceso tecnificado para la producción de barbacoa de borrego consiste en la utilización de un recipiente de acero inoxidable de capacidad adecuada y una rejilla cilíndrica de alambre de acero inoxidable, en calentar en dicho recipiente la carne recubierta con maguey y demás ingredientes a temperaturas de cocción en un rango de 88 a 111 °C durante tiempos entre 3,5 a 7 h, pudiendo aplicar presión superior a la atmosférica si el recipiente lo permite. Además de

ello proponen, si fuese conveniente, la conservación de la barbacoa en lata, esterilización en bolsa y pasteurización al vacío.

Tabla 1. Comparación de los parámetros fisicoquímicos de distintos cortes de barbacoa elaborada bajo los procesos tecnificado y artesanal

Parámetro	CORTE					
	Pierna		Paleta		Lomo	
	Tecnificada	Tradicional	Tecnificada	Tradicional	Tecnificada	Tradicional
Dureza (kg)	2,82±0,28	1,99±0,33	2,64±0,18	2,33±0,29	3,33±0,44	2,02±0,38
Color						
L*	45,6±2,9	53,4±3,3	54,7±6,2	53,7±3,1	52,5±5,0	52,0±3,6
a*	6,1±1,0	6,1±1,2	4,7±1,9	4,9±1,0	4,6±1,6	5,6±1,3
b*	16,5±2,5	15,9±2,3	14,8±2,6	14,9±1,0	15,3±3,1	15,1±1,9
Humedad %	57,3±0,8	58,4±1,4	57,2±2,3	57,8±0,3	58,3±0,8	58,4±0,4

Fuente: Peña (2008)

Además del proceso tradicional y el sistema tecnificado propuesto son varios los elaboradores de barbacoa que prescinden del hoyo u horno en el suelo y elaboran la barbacoa de una forma adaptada al medio urbano que se podría llamar “semitecnificada”. Para ello usan bidones metálicos grandes que son calentados por la parte inferior mediante fuego producido por gas o leña, donde se introducen las pencas, el recipiente del consomé y la carne, en el mismo orden que se menciona para la barbacoa en forma tradicional. Incluso a veces se prescinde de las pencas o bien se agregan trozos de penca en el consomé con la finalidad de impartir sabor al mismo (comunicación personal, barbacoeros de la zona de Hidalgo).

La venta de barbacoa tradicionalmente se realiza en puestos ambulantes que se colocan principalmente los fines de semana en mercados, carreteras o calles. La comercialización de este producto ha mostrado algunos cambios durante los últimos años, pues cabe señalar que también existen restaurantes que ofrecen durante toda la semana este platillo y supermercados en los que se ofrece barbacoa envasada al vacío. Además, existen algunas empresas que se dedican a la exportación a los Estados Unidos de América, tratando de satisfacer el mercado generado por la nostalgia de los migrantes mexicanos en ese país.

1.3. Otras carnes cocinadas bajo tierra en Latinoamérica

El método de cocción bajo tierra era utilizado por las culturas mesoamericanas para preparar carne de distintos animales de la zona (Avila *et al.*, 1988). Es por esto que se pueden encontrar a lo largo y ancho de Latinoamérica otros platillos que se elaboran de forma similar a la barbacoa de ovino. Más al sur de México, en Guatemala, se prepara el “tapao” que se produce en la zona nororiental de dicho país y parece ser que fue creado por los pobladores de Garifuna, de piel negra, pertenecientes a la cultura Caribe-Arahuaco. Se prepara un hoyo (tapao) en el que se cocinan bajo tierra carnes y verduras envueltas en hojas de plátano con el calor producido por piedras incandescentes (Grados-Silverio, 2010).

Más al sur, en la zona andina, esta forma de preparar carne también es popular y tradicional. Destaca en Perú la pachamanca (que significa en español madre-tierra), que es típica de las poblaciones de Huaraz, Huancayo, Huánuco, Huarochirí y Huántar, lugares relacionados con el centro religioso de las diferentes culturas preincas y que se puede encontrar actualmente en cualquier parte del país, con adaptaciones asumidas por cuestiones económicas y sociales (Grados-Silverio, 2010). La pachamanca es un platillo elaborado por la cocción, al calor de piedras precalentadas, de carnes de vaca, cerdo, pollo y cuy (o cobaya), previamente aderezadas con ingredientes como huacatay, ají, comino, pimienta, y acompañadas de vegetales andinos como papas, camote, choclo, haba en vainas y, eventualmente, yuca. Para su elaboración se excava un horno artesanal abriendo un hoyo en la tierra donde se colocan piedras, que se calientan con la combustión de leños. Alternativamente se usan estructuras de ladrillos hechas para tal fin. Calentado el horno, se procede a introducir la carne previamente sazonada, macerada en los productos saborizantes, y envuelta en hojas de plátano, ordenándose sobre piedras, lajas o bandejas metálicas. Para cerrar el horno se utilizan hojas de diversas plantas y tierra, a fin de concentrar el calor. Transcurrido un tiempo se abre el horno y se procede a servir. Además, Castillo-Posadas (2010) indica que en Piura también existe una elaboración similar conocida como “el copús”, el cual consiste en carnes y vegetales cocinados con las piedras calientes en un hoyo bajo la tierra, cubierto de telas y de arcilla.

Igualmente, en Bolivia se prepara el wathi'a (Aymara) y el phampak'u (Quechua), para lo cual se hacen hoyos dentro de la tierra con piedras caldeadas al rojo vivo, luego se colocan las carnes (de llama, cordero, vaca, pato, cordero, o cerdo) y tubérculos, en unos recipientes de hierro cerrado en forma de caja llamados "phanpaker'a" (Grados-Silverio, 2010). Por su parte, Castillo-Posadas (2010) menciona que entre los Aymaras se conoce un método denominado "wajaña", vocablo utilizado para referirse a la quema de piedras para hacer cal, pero también al método usado para cocinar papas, ollucos y ocas utilizando las piedras calentadas al fuego.

También el "curanto" chileno y argentino consiste en carne cocinada bajo tierra de origen tradicional (Montecino-Aguirre, 2003; Grados-Silverio, 2010). La palabra curanto viene del mapudungun "curantü", que significa "piedra calentada por el sol". El "curanto" se prepara en un hoyo con piedras calientes tapado de forma que se permita la cocción al vapor de la carne, pescados o mariscos (Grados-Silverio, 2010). Montecino-Aguirre (2003) mencionan otro platillo denominado "calapurca" que es un producto hecho con carne de lomo de alpaca, aunque en ocasiones se añade pollo, se le agrega papa, ajo, cebolla, sal y cilantro; después se le echa el ají al gusto. También se le puede agregar un condimento que se llama sibarita. Para su cocción se utilizan piedras que se calientan al rojo vivo y se añaden a la olla.

En Brasil se prepara otro platillo que se cuece bajo tierra, que se llama "paparuto" y es elaborado por ciertas poblaciones indígenas de las zonas de Xingu, entre Brasil y Paraguay (Grados-Silverio, 2010; Castillo-Posadas, 2010). Los ingredientes básicos son la carne de caza y la yuca, además del cerdo o la vaca. Para su elaboración se disponen hojas de plátano en cruz sobre el suelo, sobre ellas se coloca yuca rayada y pedazos de carne. Luego se envuelven los ingredientes en las hojas, en forma de bultos.

1.4. El maguey

Los agaves también conocidos como magueyes son plantas que pertenecen a la familia de las *Agavaceas*. Son plantas suculentas con hojas dispuestas en espiral que forman una roseta (Figura 5). Algunas especies tienen un tronco definido; sin embargo, la mayoría no tiene tallo. Sus hojas son de color verde hasta de un metro de largo y terminan en una puya de color café. El género

Agave está formado por más de 200 especies, lo que hace difícil su clasificación filogenética y taxonómica. Muchas de esas especies se localizan en México, siendo las más importantes desde un punto de vista de su interés económico las siguientes: *A. salmiana* y *A. atrovirensare*, utilizadas en la producción de pulque, *A. potatorum* y *A. angustifolia*, en la producción de mezcal, y *A. tequilana* Weber var. azul, en la producción de tequila (Peña-Álvarez, 2004). Para la elaboración de barbacoa se utiliza el *A. salmiana*.

Figura 5. Planta de la especie *Agave salmiana*, de la cual se usan sus hojas para elaborar barbacoa de borrego.

Con respecto a la composición química de los agaves se tiene poca información. Pinos-Rodríguez *et al.* (2008) describieron la composición bromatológica en hojas de *Agave salmiana* en diferentes etapas fisiológicas y secciones de las hojas (Tabla 2). Martínez *et al.* (1995) realizaron un estudio sobre la composición química de extractos acuosos de los diversos magueyes en el estado de Oaxaca y encontraron grandes fluctuaciones en el contenido en proteína y carbohidratos solubles – la proteína soluble mostró un rango entre 0,34 y 3,16% en extracto seco, mientras que los carbohidratos solubles variaron entre 0,82 y 24,89%. Desde un punto de vista nutricional, el consumo de néctar de agave está ganando popularidad debido a que tiene un bajo índice glucémico,

además de ser un producto no refinado con un contenido elevado de minerales y sustancias con propiedades beneficiosas para la salud del consumidor (Phillips *et al.*, 2009).

Tabla 2. Composición química proximal de hojas de maguey (*Agave salmiana*) en diferentes estados fenológicos y secciones de la hoja expresada como g/kg de materia seca.

	Etapa fisiológica de la planta			Sección de la hoja	
	Maduro	Reproductivo	Joven	Inferior	Superior
Materia seca	105	130	110	111	119
Proteína cruda	43	38	48	35	51
Cenizas	86	84	138	99	106
Carbohidratos solubles	247	358	189	278	252
Saponinas	11,1	7,5	8,9	5,0	4,9

Fuente: Pinos – Rodríguez *et al.* (2008)

Dentro de los componentes químicos del agave merecen especial atención las saponinas y los polifenoles (Yokosuka y Mimaki, 2009; Ben Hamissa *et al.*, 2012). Almaraz-Abarca *et al.* (2009) estudiaron la composición de polifenoles de *A. duranguensis* y encontraron como principales el canferol y la quercetina. Duke (2000) encontró que la fracción polifenólica de las hojas de *A. americana* está compuesta principalmente por canferol. Además, la riqueza en polifenoles y terpenos hace pensar que la planta puede tener efecto antioxidante (Rice-Evans *et al.*, 1997). En este sentido, Tovar-Robles *et al.* (2011) mostraron que el aguamiel extraída de *A. salmiana* tuvo una actividad antioxidante que, aunque menor (en un 20 %) que la obtenida con café o zumo de uva, fue el doble a la mostrada por el pulque y tres veces y medio más que la del zumo de naranja mezclado con nopal.

También se ha estudiado el perfil de ácidos grasos y la presencia de terpenos de tres especies de agaves: *A. salmiana*, *A. angustifolia* y *A. tequilana* (Peña-Alvarez *et al.*, 2004). Se identificaron diez ácidos grasos, así como nueve terpenos en *A. salmiana*, ocho en *A. angustifolia* y 32 en *A. tequilana*, siendo el principal de ellos el linanool. Esos autores indican que los mono y sesquiterpenos aportan notas deseables de aroma y olores agradables al tequila, mezcal y pulque, bebidas que se elaboran a base de agave fermentado. Otros trabajos indican que algunas especies de agave tienen capacidad antimicrobiana.

Méndez *et al.* (2012) utilizaron extractos de *A. lechuguilla* y encontraron un efecto antimicrobiano contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* y *Enterobacter aerogenes*, que atribuyen a la presencia de diterpenos y flavonoides. También Sánchez *et al.* (2005) encontraron que los extractos de *A. asperima* y *A. striata* tuvieron un efecto inhibitor sobre el crecimiento de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Por su parte, Verastegui *et al.* (1996) mostraron como los extractos de las raíces de *A. lechuguilla* inhibieron el crecimiento de *Clostridium perfringes*, *Salmonella dysenteriae* y varios hongos.

2. Objetivos

El presente trabajo tuvo como objeto general contribuir al conocimiento de la barbacoa con vistas a definir su calidad y proteger su elaboración y comercialización como producto tradicional. El estudio se enfoca en la evaluación del efecto del uso de maguey en la elaboración de barbacoa sobre los aspectos de su calidad relacionados con el aroma. Concretamente el objeto específico del trabajo ha sido investigar la posible influencia de la penca del maguey sobre los componentes volátiles de la carne de ovino cocinada en contacto con la misma.

3. Materiales y Métodos

3.1. Resumen del plan experimental

En el presente estudio se han planteado dos experimentos de la manera que se expone a continuación. El experimento primero (experimento preliminar) consistió en preparar un extracto acuoso obtenido de las pencas de maguey. El extracto se mezcló con carne picada en distintas proporciones y las mezclas se almacenaron en refrigeración. El grado de oxidación se determinó analizando las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. En el segundo experimento se analizaron los compuestos volátiles de las pencas de maguey asadas, listas para ser utilizadas en la elaboración de barbacoa de borrego. También se determinaron los compuestos volátiles del espacio de cabeza de la carne de ovino previamente cocinada en planta piloto, simulando las condiciones de temperatura y tiempo a las que se somete la barbacoa, usando o no pencas de maguey en el proceso de cocinado. Los análisis se llevaron a cabo tanto en

muestra recién cocinada como en muestra almacenada a refrigeración durante 5 días.

3.2. Obtención y preparación de las muestras

3.2.1. Obtención de las pencas de maguey

Se utilizaron 12 piezas de hojas de maguey manso o pulquero (*Agave salmiana Otto*) recolectadas en San Lorenzo Sayula, Cuautepéc de Hinojosa, Estado de Hidalgo, México, procedentes de distintas explotaciones familiares de la zona. Las muestras fueron asadas en forma tradicional hasta tener una coloración amarillo pálido. Las pencas fueron cortadas del maguey, después de ello se recortó la orilla y la parte más gruesa de la hoja se rebajó con un cuchillo hasta obtener una pieza flexible de un grosor aproximado de 2 cm. El asado de las pencas consistió en colocarlas sobre fuego directo por un lado y a continuación del lado contrario, por un tiempo aproximado de 5 minutos, hasta alcanzar la coloración amarillenta. Las pencas posteriormente se limpiaron con un trapo retirando las partes que se habían carbonizado por efecto del fuego. Una vez limpias las pencas se conservaron en congelación a -20 °C (Torrey, Monterrey, México) hasta la determinación de compuestos volátiles. El tiempo transcurrido no superó los 30 días después de la recolección de las muestras.

3.2.2. Experimento preliminar. Efecto del maguey sobre la estabilidad oxidativa de la carne de ovino cocinada

Las muestras de penca de maguey utilizadas en este experimento fueron tres porciones de tres de las pencas asadas descritas en la sección anterior (3.2.1), de forma que el ensayo se realizó por triplicado. A partir de 15 g de cada penca molida y 135 ml de agua destilada se obtuvo una dispersión acuosa que fue sometida a agitación constante durante la noche a temperatura ambiente (aproximadamente 18 °C). Una vez transcurrido dicho tiempo la mezcla se centrifugó a 3000 g por 5 min y se filtró a través de papel Whatman nº 4, con ayuda de un embudo Buchner y una trompa de agua para hacer el vacío. El extracto se almacenó en un frasco oscuro a -20 °C hasta el momento de su utilización.

En el momento de hacer el ensayo, se molieron con una picadora doméstica 350 g de carne obtenida de las correspondientes tres piernas de

cordero adquiridas en una carnicería local. A su vez, a tres submuestras de 50 g de carne picada se les agregó 0,5 g de sal común (1 % sobre el peso de la carne) y extracto de maguey a distintas cantidades: 2,5 ml (correspondiente a 0,25 g de maguey), 5 ml (0,5 g), y 10 ml (1 g). Inmediatamente se procedió a homogenizar manualmente cada una de las mezclas. Además, se preparó una muestra control consistente en 50 g de carne picada sin adición de extracto de maguey. Finalmente, se preparó un control positivo que no llevaba extracto de maguey, pero llevaba ácido ascórbico en cantidad de 0,5 g/kg. Una vez preparadas las mezclas, se introdujeron en bolsas plásticas herméticas y se sometieron a cocción en baño María a 85 °C durante 45 min. Tras el cocimiento las muestras de carne se enfriaron y fueron picadas por segunda vez, en la picadora doméstica, y se almacenaron en bandejas, protegidas de una película plástica de polietileno con alta permeabilidad al oxígeno (14.000 ml/(m² 24 h)) e impermeable al vapor de agua, a 4 °C, para posteriormente realizar el análisis de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en los días 1 (el mismo día de la cocción), 3 y 6 de almacenamiento.

3.2.3. Preparación de muestras para determinar el contenido de compuestos volátiles de la penca de maguey y de la carne cocinada con o sin el uso de penca de maguey

Seis de las hojas de maguey anteriormente descritas fueron descongeladas y de cada una se tomaron dos submuestras de 50 g. Una se analizó sin cocimiento y la otra muestra de la misma hoja se cocinó al vapor durante 6 h en una olla de acero inoxidable con aproximadamente con 2 l de agua destilada, con tapadera y a presión atmosférica, con el fin de simular una cocción tradicional de la barbacoa en México. Después del cocinado las porciones de maguey cocinado se enfriaron durante 2 h. Finalmente, tanto los pedazos de maguey crudo como los del cocinado se molieron en una picadora doméstica e inmediatamente se procedió al análisis de los componentes volátiles.

En relación a la carne, se utilizaron 18 piezas de carne de ovino, provenientes de la pierna, específicamente de los músculos semitendinoso y semimembranoso. La carne provenía de animales diferentes de la misma craza (Suffolk x Dorset), los cuales fueron alimentados bajo un sistema de producción semiintensivo en el cual se les ofreció alimento concentrado por la mañana y por la tarde. Mientras que, entre esos tiempos los animales pastaron en praderas

nativas de la zona de Hidalgo en México. Los animales se sacrificaron a una edad aproximadamente a los 6 meses de edad y con un peso vivo promedio de 45 kg.

La cocción de la carne con penca de maguey se llevó a cabo de la siguiente manera: en una olla de acero inoxidable se colocaron 2 l de agua destilada, una pieza de carne, de unos 200 g y un trozo de aproximadamente de 30 g de hoja asada de maguey de forma rectangular y de 1 cm de grosor aproximadamente. El maguey se colocó sobre la carne (el maguey estuvo en contacto con la cara externa de los músculos) y el conjunto se envolvió en una lámina de papel aluminio y así se cocinó a fuego lento al vapor por 6 h con la olla tapada a presión atmosférica. De la misma manera se preparó la otra porción de carne bajo las mismas condiciones, pero sin utilizar hojas de maguey. Tras la cocción, la carne se dejó enfriar durante una hora y se introdujo en bolsas de plástico donde se congeló a -50 °C. En un intervalo de 1 a 1,5 meses los trozos de carne se descongelaron. Una vez descongeladas, por una parte, se extrajo la grasa subcutánea que se picó en picadora doméstica y se utilizó para el análisis inmediato de compuestos volátiles. Por otra parte, se eliminó la grasa intermuscular y los trozos de carne (sin grasa visible) se trocearon con un cuchillo y se trituraron con una picadora doméstica. Posteriormente, una parte de la carne picada se utilizó para el análisis inmediato de los compuestos volátiles y otros 50 g se mantuvieron envueltos en película plástica permeable al oxígeno durante 5 días a temperatura de refrigeración (4 °C) antes del análisis de su perfil volátil.

3.3. Análisis de laboratorio

3.3.1. Análisis de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (ATB)

Las sustancias reactivas al ATB se determinaron mediante espectrofotometría de acuerdo al método descrito por Nam y Ahn (2003), con ligeras modificaciones, tal y cómo se describe a continuación. Una cantidad de 10 g de las mezclas de carne picada de cada día de muestreo fue homogeneizada con 90 ml de agua destilada en un homogeneizador (Sorvall Omni-Mixer, 17105W; Ivan Sorvall, Inc., Norwalk, CT, EEUU), añadiéndose previamente 0,05 ml de una solución alcohólica de butil-hidroxi-tolueno (7,2%) con el fin de detener la oxidación durante la preparación de las muestras. Para

cada una de las muestras, se mezclaron en un tubo 1 ml de homogeneizado con 2 ml de solución de ATB 0,02 M en ácido tricloroacético al 15% y los tubos se introdujeron en un baño de agua a 80 °C donde se mantuvieron durante 30 min. A continuación, los tubos se centrifugaron a 4 °C durante 20 min a 3500 rpm y se midió la absorbancia de los sobrenadantes a 532 nm. La absorbancia se utilizó para calcular la cantidad de sustancias reactivas al ATB, expresadas como malonaldehído y calculadas a partir de una curva patrón, realizada con una solución de cantidades crecientes de 1,1,3,3-tetra-etoxi-propano (TEP), siguiendo el mismo procedimiento de análisis que el de las muestras.

Para preparar dicha curva patrón se midió con una precisión de $\pm 0,001$ ml en un matraz aforado de 100 ml, 0,0081 ml de TEP, pesando dicha cantidad. Esta cantidad de TEP se disolvió en 70 ml de agua destilada y posteriormente se completó el volumen a 100 ml para obtener así la solución stock de TEP 3×10^{-4} M. Esta solución fue mantenida en refrigeración (4 °C) hasta una semana, y a partir de ella se preparó la solución de trabajo 3×10^{-5} M diluyendo 10 ml de la solución stock en agua destilada desionizada hasta completar un volumen de 100 ml. Se pipetearon alícuotas de 0; 0,33; 0,66; 1,0; 1,33; 1,67; 2 ml de la solución de trabajo en matraces volumétricos de 10 ml y se adicionó agua destilada desionizada hasta completar el volumen. Un ml de cada dilución preparada se transfirió a tubos de ensayo con tapón de rosca conteniendo 2 ml del reactivo de ATB. Tras su agitación, los tubos fueron puestos en un baño de agua a 80 °C durante 30 min hasta desarrollarse el color, y posteriormente fueron enfriados durante 10 min en un baño de agua fría. La absorbancia de los estándares fue medida a 531 nm (longitud de onda de máxima absorción).

3.3.2. Análisis de componentes volátiles

Se colocaron 5 g de muestra triturada (carne, grasa subcutánea o penca de maguey) en un vial (5188-2753; 75 x 22,5 mm; Agilent Technologies, Zwingen, Suiza) con capacidad de 20 ml, se añadieron 0,073 g de NaCl y 4,67 ml de agua y se mezcló el conjunto. Los viales se cerraron herméticamente utilizando tapas metálicas con rosca y septo de silicona/PTFE (Agilent Technologies) y se llevaron al inyector automático (Combi PAL autosampler; CTC Analytics AG, Zwingen, Suiza). Las condiciones del muestreo automatizado del espacio de cabeza fueron las siguientes: los viales se acondicionaron durante

40 minutos a una temperatura de 60 °C con una velocidad de agitación de 750 rpm, con intervalos de 5 s de encendido y 2 s de apagado. La temperatura de la jeringa se mantuvo a 100 °C. La jeringa se limpió mediante arrastre gaseoso con helio después de cada extracción. La velocidad de llenado fue de 100 µl/s y la de inyección de 250 µl/s. El volumen de inyección fue de 1 ml. Se utilizó una camisa de inyección de 2 mm de diámetro interno no activada (Agilent; 18740-80220). La inyección se efectuó a 260 °C en modo de división de flujo con una división de 2:1. Los compuestos volátiles se analizaron en un cromatógrafo de gases CG7890A acoplado a un espectrómetro de masas MSD 5975C con un detector de masas de tipo cuadrupolo (Agilent Technologies). Los compuestos se separaron utilizando una columna DB-5MS (J&W Scientific, Folsom, CA, EEUU) con una longitud de 60 m, 0,25 mm de diámetro interno y 25 µm de espesor de relleno. El gas portador fue helio, fluyendo a velocidad constante de 1,5 ml/min. La programación del horno comenzó a 37 °C con un mantenimiento de 1 minuto, la temperatura se incrementó hasta 50 °C a una velocidad de 10 °C/min, hasta 146 °C a 4 °C/min, hasta 200 °C a 20 °C/min y hasta 250 °C a 50 °C/min, manteniendo esta temperatura durante 11 minutos. La temperatura de la línea de transferencia fue de 280 °C y la fuente de iones operó a 250 °C. Los espectros de masas se obtuvieron utilizando el modo de impacto de electrones con una energía de 70 eV. El voltaje relativo se mantuvo en 1235 V. Para el tratamiento de datos se utilizó el modo escaneo (scan) con un rango de masas de m/z 40-400 a una velocidad de 3,94 escaneos/s.

Los volátiles detectados se identificaron mediante la comparación del espectro de masas del compuesto con los de la base de datos NIST/EPA/NIH-08, a partir de su tiempo de retención relativo (TRR) y por interpretación espectral cuando fue necesario. Para calcular el TRR se utilizó una serie de n-alcenos de cadena lineal entre 5 y 20 átomos de carbono (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EEUU). La mezcla de alcanos se preparó en un vial con 1 ml de n-hexano y 50 µl de cada uno de los siguientes alcanos de n-pentano, n-heptano, n-octano, n-nonano, n-decano, n-undecano, n-dodecano, n-tridecano, n-tetradecano, n-pentadecano, n-hexadecano, n-heptadecano, n-octadecano, n-nonadecano y n-eicosano. Se inyectó en el cromatógrafo 1 µl de la mezcla bajo las mismas condiciones que las descritas para las muestras. Para el cálculo de los TRR experimentales se empleó la siguiente fórmula descrita por David *et al.* (2002):

$$TRR = \frac{100 \times (t_{rx} - t_{rz})}{(t_{rz+1} - t_{rz})} + (Z \times 100)$$

Dónde:

TRR = Tiempo de retención relativo o índice de Kovats

Z = Número de carbonos del n-alcano precedente

t_{rz+1} y t_{rz} = Tiempos de retención obtenidos para los n-alcanos posterior y precedente al compuesto problema, respectivamente.

t_{rx} = Tiempo de retención obtenido para el compuesto problema

La cuantificación de compuestos volátiles se realizó por medio del área de pico bajo la curva de cada compuesto.

3.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo mediante análisis de varianza seguido, eventualmente, de la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0,05$). El análisis de varianza fue de una vía cuando se compararon los valores de las sustancias reactivas al ATB en la carne picada con extracto de maguey, las concentraciones de volátiles del espacio de cabeza del maguey crudo con las del maguey cocinado, y al comparar los volátiles de la grasa subcutánea de las muestras cocinadas con maguey con los de las cocinadas sin maguey. En la comparación de los volátiles de la carne magra cocinada se utilizó un análisis de varianza de dos vías, siendo el uso de maguey y el tiempo de cocinado los factores estudiados, así como la interacción entre los mismos. Todos los análisis estadístico se realizaron con el programa Statistica for Windows (StatSoft, Tulsa, OK, EEUU).

4. Resultados y Discusión

4.1. Efecto del maguey sobre la estabilidad oxidativa de la carne cocinada

En la Tabla 1 se muestra el efecto de la adición de extracto acuoso de penca de maguey en diferentes cantidades sobre la oxidación de los lípidos en carne cocinada almacenada a refrigeración. El grado de oxidación fue estimado mediante los niveles de sustancias reactivas al ATB. Se compararon los valores con los de un control de carne sin adición de extracto (control negativo) y los de

carne también sin extracto pero adicionada con ácido ascórbico en las cantidades normalmente utilizadas en la industria cárnica (control positivo).

En la Tabla se puede apreciar cómo las sustancias reactivas al ATB incrementaron en todos los tratamientos con el tiempo de conservación. Los valores mas altos de oxidación fueron observados en el control, mientras que los valores mas bajos de sustancias reactivas al ATB fueron para el tratamiento con ácido ascórbico. Se puede constatar que la adición de maguey ejerció efecto antioxidante con respecto al control negativo, aunque no tan marcado como el efecto del ácido ascórbico. El efecto antioxidante de la penca de maguey fue más claro con la adición máxima de maguey (extracto de 1 g de penca por 50 g de carne), ya que para todos los tiempos de almacenamiento se observaron diferencias significativas entre este tratamiento y el control negativo.

El efecto antioxidante de la penca de maguey se puede atribuir a su riqueza en compuestos fenólicos con poder antioxidante (Rice-Evans *et al.*, 1997; Ben Hamissa *et al.*, 2012). Se sabe que los compuestos fenólicos inhiben la formación de radicales libres y la propagación de reacciones de radicales libres (Baydar *et al.*, 2004; McBride *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011). En relación con esto, se ha comprobado como diversos extractos de plantas en etanol o en agua pueden ejercer un efecto inhibitor sobre la oxidación de los lípidos de la carne (Ahn *et al.*, 2007; Georgantelis *et al.*, 2007; Brannan, 2009) y en productos cárnicos cocidos (Ahn *et al.*, 2002; Vuorela *et al.*, 2005; Salminen *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2013).

Tabla 1. Niveles de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (expresadas como mg de malonaldehído por kg; media $\pm$ desviación estándar, n = 3) en carne cocinada en función del tratamiento y tiempo de almacenamiento a refrigeración

Tratamiento [#]	Día 1	Día 3	Día 6
Control negativo	1,95 $\pm$ 1,16 ^a	3,77 $\pm$ 0,19 ^a	6,78 $\pm$ 0,08 ^a
Control con ácido ascórbico	0,99 $\pm$ 0,06 ^d	1,80 $\pm$ 0,02 ^c	3,55 $\pm$ 0,34 ^c
Extracto 0,25	1,68 $\pm$ 0,10 ^b	3,43 $\pm$ 0,31 ^{ab}	5,35 $\pm$ 0,63 ^b
Extracto 0,50	1,77 $\pm$ 0,11 ^{ab}	3,41 $\pm$ 0,21 ^{ab}	5,77 $\pm$ 0,67 ^{ab}
Extracto 1,00	1,36 $\pm$ 0,12 ^c	3,02 $\pm$ 0,14 ^b	5,34 $\pm$ 0,56 ^b

[#] Control: carne; ácido ascórbico: control + 0,5 g de ácido ascórbico por kg de carne; extracto 0,25, 0,50 y 1,00: control + 0,25 g, 0,50, y 1,00 g de penca de maguey por 50 g de carne, respectivamente.

^{a,b,c} Valores de cada columna con ninguna letra en común presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$, prueba de Tukey).

4.2. Contenido de compuestos volátiles de la penca de maguey

En el espacio de cabeza de las pencas de maguey se identificaron 18 compuestos volátiles (Tabla 2). Estos compuestos volátiles se han agrupado en cuatro clases de acuerdo a la familia química a la que pertenecen: aldehídos, compuestos bencénicos, azufrados y terpénicos. En las pencas sin cocinar se encontraron los 18 compuestos, siendo los más abundantes los siguientes: disulfuro de carbono, pentanal, 2-metil-pentanal, tolueno y un compuesto terpénico que no pudo ser totalmente identificado. En las pencas cocinadas se encontraron solo 10 de los 18 compuestos, siendo los más abundantes disulfuro de carbono, pentanal y tolueno. La cocción provocó la disminución de la concentración de casi todos los compuestos volátiles, lo que se explica por pérdida de los mismos en agua o por evaporación, o por degradación térmica durante el proceso de cocinado. Como excepción, el contenido medio de tolueno no disminuyó con el cocimiento.

Tabla 2. Compuestos volátiles encontrados en penca de maguey asada antes y después de su cocción en agua (área de pico x 10⁻⁶)

Compuesto	TRR	Antes de cocer (n = 6)	Después de cocer (n = 6)
<i>Aldehídos</i>			
2-Metil-butanal	710	0,43 ± 0,52	ND
Pentanal	704	1,56 ± 0,60	1,07 ± 0,50
2-Metil-pentanal	732	1,44 ± 1,28	0,43 ± 0,55
Hexanal	766	0,20 ± 0,21	ND
Heptanal	894	0,09 ± 0,07	ND
Octanal	966	0,18 ± 0,11	ND
Nonanal	1089	0,34 ± 0,20	0,52 ± 0,10
Furfural	802	0,58 ± 0,34	ND
<i>Compuestos bencénicos</i>			
Benceno	680	0,42 ± 0,69	ND
Tolueno	770	1,07 ± 0,43	1,83 ± 0,66
Xileno	877	0,17 ± 0,18	ND
Benzaldehído	903	0,29 ± 0,06	ND
<i>Compuestos azufrados</i>			
Disulfuro de carbono	544	144,37 ± 96,53	35,00 ± 33,51
<i>Compuestos terpénicos</i>			
Cimeno o isómero (C ₁₀ H ₁₄)	1004	0,07 ± 0,11	0,12 ± 0,15
Limoneno o isómero (C ₁₀ H ₁₆)	1030	0,20 ± 0,16	ND
Naftaleno	1106	0,09 ± 0,16	ND
1,2-dihidro-1,1,6-trimetil- naftaleno o isómero (C ₁₃ H ₁₆)	1355	ND	0,38 ± 0,26
Compuesto terpénico	1390	3,46 ± 7,4	0,37 ± 0,31

ND: no cuantificado en ninguna muestra, límite de cuantificación: 0,1 x 10⁻⁶ unidades de área.

En el único estudio encontrado en la bibliografía sobre compuestos volátiles de agaves se determinaron los volátiles en la piña del maguey, extraídos por una técnica combinada de destilación-extracción (Peña-Alvarez *et al.*, 2004). Estos autores observaron la presencia de aldehídos, ésteres, ácidos y terpenos, pero solo enumeraron los terpenos, compuestos en los que se centró el estudio. Entre los terpenos identificados están el limoneno, p-cimeno y naftaleno, presentes en la piña de tres diferentes magueyes (*A. salmiana*, *A. angustifolia* y *A. tequilana* Weber var. azul) y detectados también en el presente estudio. Los compuestos bencénicos encontrados en este estudio podrían proceder del humo en el proceso del asado, ya que el humo es rico en estos compuestos y su presencia ha sido detectada en alimentos ahumados (Maga, 1987; Wittkowski *et al.*, 1990).

4.3. Efecto del maguey en los compuestos volátiles de la carne cocinada

En la Tabla 3 se muestran el contenido en aldehídos de cadena lineal en la grasa subcutánea de la carne de cordero. Estos cinco compuestos fueron los volátiles mayoritarios en la grasa y son los únicos que se muestran en la Tabla por simplificar la exposición de los resultados. Los aldehídos de cadena lineal son compuestos volátiles derivados de la degradación/oxidación lipídica, siendo el hexanal, el más abundante en carne cocinada, un indicador del grado de oxidación de la carne (Frankel, 1982; Elmore *et al.*, 1999; Pegg y Shahidi, 2012; Resconi *et al.*, 2013).

Existieron diferencias significativas entre tratamientos para las concentraciones de los aldehídos (de todos menos de pentanal), de forma que cuando se utilizó penca de maguey las concentraciones fueron más bajas. Esta circunstancia permite suponer que el contacto del maguey con la grasa subcutánea ejerció un efecto inhibitor de la degradación/oxidación lipídica durante el cocinado de la carne. Este efecto podría relacionarse con la presencia de sustancias antioxidantes en el maguey.

La Tabla 3 muestra el contenido de aldehídos mayoritarios en carne magra de ovino cocinada en presencia o no de hojas de maguey en el momento posterior al cocinado y después de 5 días de almacenamiento. Los compuestos volátiles detectados fueron 22. De estos, 21 fueron identificados y se agruparon en 8 familias químicas. Los más abundantes fueron los alcanos y los aldehídos de cadena lineal. La presencia de la mayor parte de los compuestos detectados:

aldehídos de cadena lineal, hidrocarburos, pentanol, 1-octen-3-ol, 2,3-octanodiona y pentil-furano se puede explicar por la oxidación/degradación lipídica (Frankel, 1982; Pegg y Shahidi, 2012; Resconi *et al.*, 2013). Consecuentemente, los niveles de estos compuestos aumentaron con el tiempo de almacenamiento, en algunos de ellos el incremento fue significativo ($P<0,05$) o mostró una tendencia estadística ($P<0,1$).

Tabla 3. Promedio del contenido de aldehídos en grasa subcutánea de carne de ovino cocinada con o sin hojas de maguey (área de pico $\times 10^{-6}$)

Compuesto volátil	Tratamiento			EEM
	TRR	Con maguey (n = 9)	Sin maguey (n = 9)	
Pentanal	732	0,15	0,15	0,08
Hexanal	802	0,80 ^b	1,27 ^a	0,09
Heptanal	903	0,24 ^b	0,40 ^a	0,02
Octanal	1004	0,17 ^b	0,26 ^a	0,01
Nonanal	1106	0,21 ^b	0,29 ^a	0,02

TRR: Tiempo de retención relativo.

EEM: Error estándar de la media.

^{abc} Ninguna letra en común indica diferencias ($P<0,05$) entre medias de una misma fila dentro de cada tipo de almacenamiento (prueba de Tukey).

Como se aprecia en la Tabla 4, el uso o no de penca de maguey en el cocinado no ejerció efecto alguno sobre el contenido de compuestos volátiles de la carne cocinada. Esto indica que el maguey no ejerció efecto protector frente a la degradación oxidativa de los lípidos musculares, a diferencia de lo observado en la grasa subcutánea. La razón de esta discrepancia se puede atribuir a que, cuando se utilizó maguey en el cocinado, la carne tuvo mucho menor contacto con el maguey que la grasa subcutánea. De esta forma, el efecto del maguey solo fue evidenciado en una zona cercana a la superficie (grasa subcutánea), pero no en profundidad (grasa intramuscular).

Tabla 4. Contenido de compuestos volátiles en espacio de cabeza en carne de cordero (área del pico x 10⁻⁶) en función del uso de hojas de maguey y el tiempo de almacenamiento (1 y 5 días)

Tempo (días)	TRR	Con maguey		Sin maguey		EEM	Nivel de <i>P</i>		
		1	5	1	5		M	T	M*T
		(n = 9)	(n = 9)	(n = 9)	(n = 9)				
<i>Alcanos</i>									
Pentano	500	6,86	16,66	13,46	15,93	2,92	NS	#	NS
Hexano	600	1,49	0,98	1,23	0,90	0,51	NS	NS	NS
Hepteno	690	0,03	0,04	0,12	0,10	0,03	NS	NS	NS
Heptano	700	0,20	0,48	0,28	0,48	0,10	NS	*	NS
Octano	800	0,60	0,90	0,55	0,79	0,15	NS	#	NS
Nonadecano	1900	0,68	0,16	0,41	1,63	0,31	NS	NS	#
Subtotal		9,87	19,22	16,05	19,73	3,31	NS	*	NS
<i>Aldehídos</i>									
Pentanal	732	3,71	5,44	4,30	4,66	0,67	NS	#	NS
Hexanal	802	20,49	31,07	26,26	27,19	4,65	NS	NS	NS
Heptanal	903	1,03 ^b	1,64 ^a	0,88	1,27	0,17	NS	*	NS
Octanal	1004	0,43	0,65	0,42 ^b	0,65 ^a	0,06	NS	**	NS
Nonanal	1106	0,67	0,82	0,58	1,07	0,12	NS	NS	NS
9-Octadecenal	<2000	0,05	0,01	0,14	0,39	0,12	NS	NS	NS
Octadecanal	<2000	0,78	0,31	0,84	0,75	0,24	NS	NS	#
Subtotal		27,16	39,93	33,41	36,00	5,52	NS	NS	NS
<i>Cetonas</i>									
2,3-Octanodiona	985	0,19	0,42	0,32	0,39	0,08	NS	*	NS
<i>Alcoholes</i>									
1-Pentanol	767	0,03	0,07	0,05	0,03	0,02	NS	NS	NS
1-Octen-3-ol	980	0,13	0,25	0,20	0,24	0,05	NS	NS	NS
Subtotal		0,24	0,31	0,25	0,33	0,07	NS	NS	NS
<i>Furanos</i>									
2-Pentilfurano	990	0,15	0,23	0,14	0,21	0,05	NS	#	NS
<i>Ésteres de ácidos grasos</i>									
Etil-hexadecanoato	1780	ND	ND	0,27	5,48	1,71	-	NS	NS

Tempo (días)	TRR	Con maguey		Sin maguey		EEM	Nivel de <i>P</i>		
		1	5	1	5		M	T	M*T
		(n = 9)	(n = 9)	(n = 9)	(n = 9)				
Compuestos bencénicos									
Tolueno	766	1,87	1,77	1,24	1,16	0,30	NS	NS	NS
Benzaldehído	966	0,26	0,21	0,25	0,34	0,03	NS	NS	*
1,1-Dimetiletoxi-benceno	1071	0,09	ND	ND	0,15	0,04	-	-	-
<i>Subtotal</i>		2,22	1,98	1,50	1,65	0,30	NS	NS	NS
Compuestos azufrados									
Benzotiazol	1235	0,95	0,36	0,33	1,64	0,52	NS	NS	NS
<i>Desconocidos</i>									
Desconocido ^{\$}									
57, 71(92), 83(58), 43(54), 41(51), 69(44), 56(38), 55(35), 40(31)	1747	0,22	ND	ND	2,02	0,56	-	-	-
Total		40,99	62,15	51,98	67,45	8,55	NS	*	NS

TRR: Tiempo de retención relativo.

EEM: Error estándar de la media

P: Probabilidad; NS, no significativo; #, $P < 0,1$; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$.^{abc} Ninguna letra en común indica diferencias ($P < 0,05$) entre medias de una misma fila dentro de cada tipo de almacenamiento (prueba de Tukey).ND: No detectado (área de pico $\times 10^{-6} < 0,05$).^{\$}: Se muestra la relación de iones con mayor abundancia en función de su relación carga/masa (entre paréntesis se incluye el porcentaje relativo de abundancia).

5. Conclusiones

El extracto acuoso de maguey muestra efecto protector frente a la oxidación de la carne picada. Efecto que en las cantidades ensayadas aumenta con la cantidad de extracto utilizada pero que no supera al efecto del ácido ascórbico, antioxidante de amplio uso en la industria cárnica.

Se han detectado diversos compuestos volátiles en el espacio de cabeza de las pencas de maguey, fundamentalmente aldehídos, compuestos bencénicos y terpenos, cuya presencia disminuye con el cocimiento.

El uso de maguey como ingrediente en contacto con la carne durante su cocinado mostró un efecto estabilizador de la degradación de los lípidos de la grasa subcutánea (en contacto directo con el maguey en la zona de contacto). Sin embargo, en el músculo no se detectó dicho efecto protector.

6. Bibliografía

- Ahn, J., Grün, I.U., Fernando L.N. (2002). Antioxidant properties of natural plant extracts containing polyphenolic compounds in cooked ground beef. *Journal of Food Science*, 67,1364-1369.
- Ahn, J., Grün, I.U., Mustapha, A. (2007). Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiology*, 24,7-14.
- Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E.A., Hernández-Vargas, V., Ortega-Chávez, M., Orea-Lara, G., Cifuentes-Días de León, A., Ávila-Reyes, J.A., Muñiz-Martínez, R. (2009). Profiling phenolic compounds of somatic and reproductive tissue of *Agave durangensis* gentry (*Agavaceae*). *American Journal of Applied Science*, 6,1076-1085.
- Anónimo (2009). Monografía de Ganado Ovino. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial. Financiera Rural. Gobierno de México. http://www.financiararural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografia_OvinoPDF.pdf (acceso, enero de 2013).
- Arteaga Castelán, J.D. (2007). Diagnóstico actual de la situación de los ovinos en México. *Revista El Borrego*, 46, Mayo-Junio.
- Ávila, H.D., Bastarrachea, J.R., Díaz, A., Flechsig, K., Moedano, G., Norman, O., Pérez San Vicente, G., Salinas, G., Suárez y Farías, M.C., Vargas, L.A. (1988). Atlas cultural de México. Gastronomía. Grupo Editorial Planeta. DF, México, pp.,127-129.
- Baydar, H., Sagdiç, O., Gülcan, Ö., Karadogan, T. (2004). Antimicrobial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*, 15,169-172.
- Ben Hamissa, A.M., Seffen, M., Aliakbarian, B., Casazza, A.A., Perego P., Converti, A. (2012). Phenolics extraction from *Agave americana* (L.) leaves using high-temperature, high-pressure reactor. *Food and Bioproducts Processing*, 90,17-21.
- Brannan R.G. (2009). Effect of grape seed extract on descriptive sensory analysis of ground chicken during refrigerated storage. *Meat Science*, 81,589-595.
- Castillo Posadas, A.J. (2010). La Pachamanca, un ritual de alimentación en los Andes peruanos. Monografía. Licenciado en Antropología. Universidad

- Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Ciencias Sociales. E.A.P. de Antropología. Lima, Perú.
- Cuellar Ordaz, J.A. (2006). La producción ovina en México. Primera Semana Nacional de la Ovinocultura. Foro Ovino: La importancia de los esquemas de cruzamiento en la producción de carne ovina. Tulancingo, Hidalgo. 04 de agosto de 2006.
- Cuéllar, A. (2007). Perspectivas de la producción ovina en México para el año 2010. Revista del Borrego, 47,Jul-Ago.
- David, F., Scanlan, F., Sandra, P., Szelewski, M. (2002). Analysis of Essential Oil compounds Using Retention Time Locked Methods and Retention Times Databases, Application. Food and Flavors. In: Agilent Technologies, Inc. Mayo 1 de 2002. EEUU, pp.,1-10.
- De Lucas Tron, J., Arbiza Aguirre, S.I. (1996). Razas de Ovinos. Editores Mexicanos Unidos, S.A. de C.V. DF, México, pp.,101.
- Duke, J.A. (2000). Handbook of Phytochemical Constituents of GRAS Herbs and Other Economic Plants. CRC press, Boca Raton, Florida. EEUU, pp.,16.
- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Enser, M., Wood, J.D. (1999). The effect of polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on the profile of aroma volatiles. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 47,1619-625.
- FAOSTAT. (2013). Anuario Estadístico de la FAO 2012. <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>. (Acceso enero de 2013).
- Frankel, E.N. (1982). Volatile lipid oxidation products. Progress in Lipid Research, 22,1-33.
- Fritsch, C.W., Gale, J.A. (1977). Hexanal as a measure of rancidity in low fat foods. Journal of the American Oil Chemists Society, 54,225-228.
- Gay, J.F.R. (2001). Guía práctica para elaborar la barbacoa. La Revista del Borrego, 9,Mar-Abr.
- Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S.A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. Meat Science, 76,172-181.
- Grados-Silverio, J. (2010). 5000 años de comer: Ciencia, cultura... y tradición. Consensus, 15,31-40.

- Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R., Janke, A. (2002). Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proceedings of Royal Society of London B*, 269,893-904.
- Kim, H., Cadwallader, K.R., Kido, H., Watanabe, Y. (2013). Effect of addition of commercial rosemary extracts on potent odorants in cooked beef. *Meat Science*, 94,170-176.
- Maga, J.A. (1987). The flavor chemistry of wood smoke. *Food Reviews International*, 3,139-183.
- Martínez Antonio, A., Martínez Cruz, M., Palma, F.J., Cordoba, Y.F. (1995). La distribución, usos y algunas características químicas de los agaves de Oaxaca (México). *Interciencia*, 20,14-19.
- McBride, N.T.M., Hogan, S.A., Kerry, J.P. (2007). Comparative addition of rosemary extract and additives on sensory and antioxidant properties of retail packaged beef. *International Journal of Food Science and Technology*, 42,1201-1207.
- Méndez, M., Rodríguez, R., Ruiz, J., Morales-Adame, D., Castillo, F., Hernández-Castillo, F.D., Aguilar, C.N. (2012). Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. *Industrial Crops and Products*, 37,445-450.
- Montecino Aguirre, S. (2003). Piedras, mitos y comidas, antiguos sonidos de la cocina chilena. *La calapurca y el curanto*. *Atenea*, 487,33-40.
- Nam K.C., Ahn D.U. (2003). Combination of aerobic and vacuum packaging to control lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated raw turkey breast. *Meat Science*, 63,389-95.
- Oliveira, T.L.C., Carvalho, S.M., Araújo Soares, R., Andrade, M.A., Graças Cardoso, M., Ramos, E.M. (2011). Antioxidant effects of *Satureja montata* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *LWT-Food Science and Technology*, 45,204-212.
- Pegg, R.B., Shahidi, F. (2012). Off flavors and rancidity in foods. In: *Handbook of meat, poultry and seafood quality*. 2nd edition. Edited by: L.M.L. Nollet. John Wiley and Sons. Oxford, Reino Unido, pp.,127-139.

- Peña Ramos, E.A. (2008). Tecnificación del proceso de elaboración de la barbacoa de borrego. Simposium Internacional Producción de Carne Ovina. 29 y 30 de mayo. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México.
- Peña-Alvarez, A., Díaz, L., Medina, A., Labastida, C., Capella, S., Vera L.E. (2004). Characterization of three Agave species by gas chromatography and solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1027,131-136.
- Phillips, K.M., Carlsen, M.H., Blomhoff, R. (2009). Total Antioxidant Content of Alternatives to Refined Sugar. *Journal of American Diet Association*, 109,64-71.
- Pinos-Rodríguez, J.M., Zamudio, M., González, S.S. (2008). The effect of plant age on the chemical composition of fresh and ensiled *Agave salmiana* leaves. *South African Journal of Animal Science*, 38,43-50.
- Resconi, V.C., Escudero, A., Campo, M.M. (2013). The development of aromas in ruminant meat. *Molecules*, 18,6748-6781.
- Rice-Evans, C., Miller, N., Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2,152-159.
- Rubio, M.S., Torres, N., Gutiérrez, J., Méndez R.D. (2004). Composition and sensory evaluation of lamb carcasses used for the traditional Mexican lamb dish, “barbacoa”. *Meat Science*, 62,359-364.
- Salminen, H., Estevez, M., Kivikari, R., Heinonen, M. (2006). Inhibition of protein and lipid oxidation by rapeseed, camelina and soy meal in cooked pork meat patties. *European Food Research and Technology*, 223,461-468.
- Sánchez, E., Heredia, N., García, S. (2005). Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of Agave species. *International Journal of Food Microbiology*, 98,271-279.
- Sánchez del Real, C. (2010). Bajando los costos de producción en ganado ovino estabulado. *Acontecer Ovino y Caprino*, 47,21-24.
- SIACON. (2012). Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=181&Itemid=426. Acceso: enero de 2012.
- Tovar-Robles, C.L., Perales-Segovia, C., Nava-Cedillo, A. Valera-Montero, L.L., Gómez-Leyva, J.F., Guevara-Lara, F., Hernández-Duque, J.L.M., Silos-

- Espino, H. (2011). Effect of aguamiel (*agave spp.*) on hematic biometry in rabbits and its antioxidant activity determination. Italian Journal of Animal Science, 10,106-110.
- Verastegui, A., Verde, J., García, S., Heredia, N., Oranday, A., C. Rivas. (2008). Species of agave with antimicrobial activity against selected pathogenic bacteria and fungi. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24,1249-1252.
- Vuorela, S., Salminen, H., Mkel, M., Kivikari, R., Karonen, M., Heinonen, M. (2005). Effect of plant phenolics on protein and lipid oxidation in cooked pork meat patties. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53,8492-8497.
- Wittkowski, R., Baltes, W., Jennings, W.G. (1990). Analysis of liquid smoke and smoked meat volatiles by headspace gas chromatography. Food Chemistry, 37,135-144.
- Yokosuka, A., Mimaki, Y. (2009). Steroidal saponins from the whole plants of *Agave utahensis* and their cytotoxic activity. Phytochemistry, 70,807-15.

CAPÍTULO 3

CAPÍTULO 3

COMPUESTOS VOLÁTILES EN CARNE DE ALPACA (*Vicugna pacos*) COMPARACIÓN ENTRE CARNE CON Y SIN EL OLOR ATÍPICO ATRIBUIDO AL CONSUMO DE ARBUSTOS TOLARES

Resumen

La carne de alpaca es un producto común y ampliamente demandado en la zona altoandina. Uno de los principales defectos de esta carne es la presencia de un olor atípico atribuido a la ingesta de tola en la dieta de los animales. La tola está presente en la vegetación esteparia que constituye los pastizales de cría de alpacas. El objetivo de este trabajo fue el de analizar el perfil volátil de carne de alpaca con y sin olor a tola. Esto se realizó por medio de dos técnicas: espacio de cabeza estático directo (SHS) y espacio de cabeza estático con microextracción en fase sólida (SHS-SPME). Se muestrearon en un mercado de la ciudad de Lima, Perú, diez canales de alpaca, cinco de ellas con olor característico y otras cinco con olor atípico a tola. Se detectaron 48 compuestos volátiles en total, 38 de ellos fueron detectados utilizando la técnica de extracción SHS-SPME y 21 utilizando SHS. También se encontró que la ausencia o presencia de olor atípico tuvo un efecto significativo sobre la concentración de algunos aldehídos y alcoholes de bajo peso molecular. No obstante, no se ha podido establecer un mecanismo fundamentado que explique la mayor presencia de esos compuestos en la carne con olor atípico a tola.

1. Introducción

Las alpacas son camélidos que se crían de forma extensiva en las zonas altas de Perú, Bolivia, Argentina y Chile. Están adaptadas fisiológicamente para vivir a gran altitud y pueden alimentarse con forrajes de escasa calidad (Quispe, 2011). Su producción en Los Andes está fundamentada en la obtención de fibra, carne, energía para el transporte, etc. (Quispe *et al.*, 2009). El sistema de producción tradicional de estos animales es extensivo y poco especializado, siendo este sistema el más conocido y el que comúnmente se lleva a cabo por las comunidades campesinas (Aréstegui, 2005). En este contexto, las alpacas se crían a base de la vegetación de pastizales nativos de condición pobre, en zonas con una altitud superior a los 3800 m sobre el nivel medio del mar, caracterizadas por condiciones geográficas difíciles, clima variable, dispersión de las viviendas, carencia de vías de comunicación y servicios (Neely *et al.*,

2001). Perú posee aproximadamente el 90% de la población mundial de alpacas y se obtienen unas diez mil toneladas de carne de alpaca al año (Instituto Nacional de Estadística e Informática del Perú, 2007). De acuerdo a diversos estudios, el rendimiento de la canal de alpaca está en el rango de 43 a 63%, siendo el valor medio a nivel nacional (Perú) de 55% (Fernández-Baca, 2005). Su cría representa un recurso importante para la población de la zona altoandina (Fairfield, 2006). La carne de alpaca se destina al autoconsumo y venta. Esta carne es atractiva desde el punto de vista nutritivo ya que tiene alto contenido proteico y bajo en grasa y colesterol (Salvá *et al.*, 2009).

Los compuestos volátiles presentes en la carne son los responsables de su sabor (Mottram, 1998; Hodgen y Calkins, 2012; Watkins *et al.*, 2012). Algunos de ellos proceden de la dieta o del tracto digestivo y otros se forman durante el cocinado de la carne, debido principalmente a la degradación térmica de las grasas y a la reacción de Maillard (Mottram, 1998; Faustman *et al.*, 2010). Entre los del primer grupo, hay compuestos aromáticos en la carne que provienen directamente del alimento, por ejemplo los terpenos. Otros son producidos por el metabolismo de los microorganismos del rumen o intestino grueso desde donde migran a sistema sanguíneo y a los tejidos donde se depositan, como por ejemplo el escatol o los ácidos grasos metil ramificados de cadena media (Vasta y Priolo, 2006). Los compuestos que tiene su origen en la dieta o en el tracto digestivo pueden aportar notas agradables o desagradables a la carne.

Vasta *et al.*, (2010) indicaron que la alimentación de los rumiantes con la planta *Cistus ladanifer* ocasiona unos niveles de 2,2,6-trimetilciclohexanona y de verbenona en la carne (transferencia directa del alimento al músculo), que puede afectar al aroma de forma positiva. Por otro lado, el olor típico a cordero, que a veces es considerado como un olor fuerte y desagradable, ha sido atribuido a la presencia en cantidades suficientemente altas de los ácidos grasos ramificados 4-metiloctanoico y 4-metilnonanoico formados en el rumen (Sutherland y Ames, 1996; Wood *et al.*, 2003). El escatol (3-metilindol), compuesto indólico producido en el tracto digestivo por descarboxilación del triptófano (Sheath *et al.*, 2001), se ha relacionado con olor sexual, a verraco o a morueco, en concentraciones elevadas da un sabor a heces (Schreurs *et al.*, 2003). Priolo *et al.* (2009) menciona que la presencia de escatol en grasa de cordero puede ser disminuida con la suplementación de semilla de uva o extracto de quebracho. Vasta y

Luciano (2011) concluyeron que los aceites esenciales de algunas plantas ricas en terpenos y compuestos fenólicos de bajo peso molecular disminuyen la formación de olor a rancio de la carne de cordero.

La alimentación de las alpacas en la zona alto-andina está basada en los pastizales naturales. La crianza de la alpaca se desarrolla a alturas que varían entre 4000 y 4500 msnm, con precipitaciones entre 500 y 900 mm. La mayoría de los criadores de alpaca reconocen cinco tipos de pastizales según el color, altura y composición del conjunto de plantas: pajonales, césped de puna, bofedales, tolares y canllares (Muñoz, 2004).

La tola es un nombre genérico que se le da a diferentes arbustos xerofíticos con hojas resinosas en zonas áridas y semiáridas de Sudamérica pertenecientes a la familia de las *Asteraceas* (Genin y Alzarreca, 2006). Entre las especies más comunes se encuentran *Parastrephia lepidophylla* (supotola), *Baccharis incarum* (ñakatola), *Fabiana densa* (taratola) y *Lampaya castellani* (lampayatola) (Vargas *et al.*, 1990). Los tolares son fundamentales para la conservación y recuperación de suelos, su sistema radicular profundo y con abundantes raíces fija el suelo, favorece la infiltración del agua y lo protege de la erosión hídrica y eólica (Genin y Alzarreca, 2006; Rojo *et al.*, 2012). De acuerdo a Wackwitz *et al.* (1999) la composición botánica de la dieta de las alpacas en Chile está constituida por un 6% de arbustos tolares, sin embargo su consumo no es mayor debido a la presencia de resinas y gomas que hacen a estos arbustos poco palatables para los animales (Genin y Alzarreca, 2006).

Según diversas fuentes, la carne de alpaca puede adquirir un olor y sabor no deseable cuando los animales consumen un arbusto llamado "tola". Salva (2011) indica que el consumo de tola por las alpacas influye muy negativamente en su calidad sensorial y en su precio. En este mismo sentido, en una entrevista realizada a Ana María Escobedo, empresaria peruana dedicada a la elaboración de embutidos de alpaca, ésta menciona que: "quizá el único peligro que acecha a la carne de alpaca sea la tola, un arbusto que impregna su carne de un sabor y olor nada agradable", puesto que "cien gramos de carne de alpaca con mal olor son suficientes para malograr todo un lote de producción" (Castillo, 2006). También, Leyva (1988) menciona que una de las limitantes del consumo de carne de alpaca es el olor y sabor desagradable que le confiere la tola. A este respecto, Muñoz (2004) matiza que aunque la mayor parte de las tolas imprimen

un sabor desagradable a la carne de los animales que las consumen, la tola tiene su importancia en la dieta de manutención como aporte de proteína y carotenos de los animales. En los proyectos Demostrativos en Bofedales Para la Crianza de Alpacas (PNUD, 2003) se implica a la tola de la especie *Parastrephia americana* del problema de olor de la carne. Mayta (2013) menciona que los rumiantes pueden ingerir ramas tiernas de *Parastrephia quadrangulare* y varias especies del género *Baccharis*, conocidas con el nombre de tola, impregnando mal sabor a la carne.

Existen diversos estudios sobre el perfil volátil de carne de diferentes especies animales dónde se compara el desempeño analítico de distintas técnicas de extracción (Elmore *et al.*, 2000; Machiels e Istasse, 2003; Madruga *et al.*, 2009; Rivas-Cañedo *et al.*, 2011; 2012). Dos de las técnicas de extracción de volátiles más utilizadas son el espacio de cabeza estático directo (SHS) (Jung y Ebeler, 2003) y el espacio de cabeza estático con microextracción en fase sólida (SHS-SPME) (Watkins *et al.*, 2012). A pesar de la extensa bibliografía internacional existente sobre el aroma de la carne, ésta no reporta investigaciones realizadas sobre los volátiles de la carne de camélidos sudamericanos. Como excepción está el estudio de Neely *et al.* (2001) donde se establece que la carne de alpaca y de llama presentaron un sabor y olor similar entre ambas. Para ello, estos autores utilizaron una “nariz electrónica” como un instrumento para distinguir entre estos dos tipos de carne y pudieron clasificar correctamente un porcentaje considerable de muestras de carne cocida de alpaca y llama con un modelo de regresión lineal.

2. Objetivos

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, los objetivos del presente trabajo fueron: a) obtener el perfil volátil de la carne de alpaca, utilizando para ello dos técnicas de extracción (SHS-SPME y SHS), y b) comparar los compuestos volátiles de carne de alpaca con olor a tola con aquellos observados en carne de alpaca sin este olor; con el fin de contribuir al conocimiento de la problemática asociada a ese olor en relación a la calidad de la carne de alpaca.

3. Materiales y Métodos

3.1. Obtención de muestras

Se utilizaron 10 canales de alpaca adquiridas en 10 puestos de venta diferentes en un mercado mayorista de Lima, Perú. Las canales fueron seleccionadas por Ana María Escobedo, gerente de la empresa Alimentos Nutritivos Andinos E.I.R.L. (Juliaca, Perú), dedicada a la elaboración de productos cárnicos con carne de alpaca, junto con Bettit Salvá, Dra. de la Universidad Nacional Agraria la Molina, UNALM, Lima, Perú. Se constató por las compradoras y los vendedores, en el momento de la compra, que cinco de las canales presentaban un olor característico atribuido al consumo de tola (grupo con olor atípico a tola) y que las otras cinco no lo presentaban (grupo sin olor a tola). Después de su recolección, las canales se llevaron a los laboratorios de la UNALM, donde se separaron los músculos *Longissimus dorsi* del lado izquierdo y se tomaron como muestras las correspondientes porciones situadas sobre las vértebras lumbares. Las muestras se cortaron transversalmente en dos partes iguales, se envasaron al vacío individualmente y fueron cocinadas en baño maría (75 °C por 30 minutos). Posteriormente fueron congeladas a -80 °C y se mantuvieron congeladas hasta su análisis cromatográfico.

3.2. Análisis cromatográfico

Las muestras de carne se descongelaron durante 12 h a 4 °C y se picaron con una picadora doméstica (Kenwood owCH180). Para la obtención de compuestos volátiles por medio de la metodología de SHS-SPME, se pesaron 7,5 g de carne y se mezclaron con 7 ml de agua destilada (Mili-Q) y 0,11 g de NaCl en viales de 40 ml con tapa de rosca y con un septo de silicon/PTFE (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU) en la parte superior. Las muestras en el vial se mantuvieron a 60°C por 10 min en un baño de agua con aplicación de ultrasonidos. Posteriormente, se insertó manualmente una fibra de carboxen-PDMS de 75 µm (Supelco, Sigma-Aldrich, Madrid, España) en el vial y se mantuvo la fibra expuesta al espacio de cabeza del vial a 60 °C durante otros 30 minutos. Transcurrido dicho tiempo, la fibra se inyectó en el cromatógrafo de gases donde permaneció 2 min. La inyección se realizó en modo sin división de

flujo (*splitless*). Después de la inyección, la fibra se acondicionó a 260 °C durante 30 min antes de la siguiente prueba.

También se realizó un análisis de compuestos volátiles utilizando la técnica SHS. Se colocaron 3 g de muestra molida en viales de 20 ml, añadiéndose 5 ml de agua destilada, 0,10 g de NaCl y 50 µl de una solución metanólica de BHT (1,2 g en 100 ml). Los viales se cerraron con tapón metálico y con septo de silicona/teflón (Agilent Technologies) y se llevaron al cromatógrafo. La inyección se realizó con un inyector automático CTC Combi PAL (CTC Analytics AG, Zwingen, Suiza). Los viales fueron mantenidos a 65 °C en una incubadora con agitación intermitente (750 rpm, 5 s de marcha, 2 s de paro) por un tiempo total de 40 minutos. Posteriormente se extrajeron 700 µl del gas del espacio de cabeza con una velocidad de llenado de 100 µl/s mediante una jeringa de 2,5 ml Combi PAL (CTC Analytics AG) precalentada a 100 °C. El gas del espacio de cabeza se inyectó en el cromatógrafo a una velocidad de 250 µl. Se utilizó el modo división de flujo (*split*) durante la inyección con una relación 1:1.

Para el análisis de compuestos volátiles (extraídos por ambas técnicas) se utilizó un cromatógrafo de gases GC 7890A acoplado a un espectrómetro de masas (MS 5975C; Agilent Technologies). Los compuestos volátiles se separaron usando una columna DB-5MS (60 m x 250 µm x 0,25 µm de grosor del relleno; J&W Scientific, Folsom, CA, EEUU). En el equipo se trabajó bajo las siguientes condiciones: helio como gas portador; velocidad de flujo, 1,5 ml; temperatura del inyector, 260 °C; programación del horno, temperatura inicial de 35 °C durante 3 minutos, incremento lineal de 35 a 50°C a 10°C/min, incremento a 146°C a 4°C/min, incremento a 200°C a 50°C/min, incremento a 250°C a 50°C/min, mantenimiento a 250 °C durante 11 minutos; temperatura de transferencia en el detector, 260 °C; energía de impacto, 69,9 eV, rango de masas m/z, 40-350; velocidad, 3,94 escaneos por segundo.

Los volátiles detectados fueron identificados comparando su espectro de masas con los de los compuestos presentes en la base de datos de espectros de masas NIST/EPA/NIH-08 y, en su caso, en diversas referencias bibliográficas. Además, se utilizó una mezcla de n-alcenos (Sigma-Aldrich) de 7 a 20 átomos de carbono disueltos en hexano, que se inyectó (1 µl) en el cromatógrafo operando en las mismas condiciones a las descritas anteriormente, con el fin de calcular los tiempos de retención relativos (TRR) o índices de Kovats para cada

volátil (David *et al.*, 2002) y poder compararlos con los disponibles en la bibliografía.

3.3. Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el programa Statistica 6.0 (StatSoft Inc., 2001). Se realizó un análisis de varianza de una vía que tuvo como variable independiente o de agrupación la presencia o no en la carne del olor atribuido al consumo de tola. También se llevó a cabo un análisis de comparación de medias de Tukey.

4. Resultados y Discusión

4.1. Volátiles en carne de alpaca

En la Tabla 1 se muestran los compuestos volátiles detectados con los métodos de extracción SHS-SPME y SPME en carne de alpaca, distinguiendo entre muestras con olor atípico atribuido al consumo de tola y sin dicho olor. En total se detectaron 48 compuestos de los que dos no pudieron ser identificados. Los compuestos detectados se han clasificado en las siguientes familias químicas: 10 alcanos alifáticos, 13 aldehídos alifáticos, 3 cetonas, 10 alcoholes alifáticos, 6 ácidos orgánicos, 1 éster, 1 compuesto furánico, 1 compuestos bencénico y 1 compuesto azufrado. No se pudo obtener la fórmula exacta de 7 de los alcanos, ni del compuesto azufrado, aunque fueron asignados a las correspondientes familias químicas a partir de su espectro de masas. Considerando únicamente la técnica SHS-SPME se detectaron 38 compuestos (uno no identificado) que se agrupan de la siguiente manera: 7 alcanos alifáticos, 11 aldehídos alifáticos, 2 cetonas, 8 alcoholes, 5 ácidos orgánicos, 1 éster, 1 compuesto furánico, 1 compuesto bencénico y 1 compuesto azufrado. Por su parte, con la técnica SHS se detectaron 21 compuestos volátiles (uno no pudo ser identificado): 4 alcanos alifáticos, 6 aldehídos alifáticos, 2 cetonas, 5 alcoholes, 1 compuesto furánico y 1 compuesto bencénico.

Tabla 1. Contenido de compuestos volátiles (área de pico x 10⁻⁶) extraídos del espacio de cabeza (SHS) con y sin microextracción en fase sólida (SPME) en carne de alpaca en función de la presencia o no de olor atípico atribuido al consumo de tola

Compuesto	TRR	SHS-SPME				SHS			
		Olor atípico de tola (n=5)		Total (n=10)	EEM	Olor atípico de tola (n=5)		Total (n=10)	EEM
		No	Si			No	Sí		
Alcano									
Hexano	600	454,65	360,03	407,34	139,04	5,68	5,17	5,42	2,78
Alcano ramificado desconocido ^{\$ I}	728	-	-	-	-	0,76	0,82	0,13	0,51
Alcano ramificado desconocido ^{\$ II}	748	-	-	-	-	0,22	0,047	0,46	0,10
Alcano ramificado desconocido ^{\$ III}	755	-	-	-	-	0,60	0,32	39,86	0,14
Alcano ramificado desconocido ^{\$ IV}	1029	0,32	0,25	0,29	0,23	-	-	-	-
Alcano ramificado desconocido ^{\$ V}	1090	0,33	0,53	0,43	0,24	-	-	-	-
Alcano ramificado desconocido ^{\$ VI}	1134	0,31	0,19	0,25	0,17	-	-	-	-
2,3,7-Trimetildecano	1455	1,36	0,40	0,88	0,72	-	-	-	-
Pentadecano	1492	0,19	0,14	0,16	0,10	-	-	-	-
Alcano ramificado desconocido ^{\$ VII}	1665	1,02	1,31	1,17	0,73	-	-	-	-
Subtotal		458,18	362,86	410,52	140,06	7,25	6,36	6,80	0,61
Aldehídos									
3-Metilbutanal	662	-	-	-	-	2,08 ^b	8,81 ^a	5,44	0,81
Pentanal	704	-	-	-	-	3,40 ^b	7,45 ^a	5,42	0,65
Hexanal	811	189,88 ^a	70,31 ^b	130,10	21,95	15,56	12,01	13,78	2,34
Heptanal	903	22,55	18,29	20,42	6,99	2,77	4,36	3,56	0,64
Trans-2-heptenal	960	1,10	0,15	0,62	0,36	-	-	-	-
Octanal	1012	3,30	2,62	2,96	0,63	0,82	0,68	0,75	0,13
2,4-Heptadienal	1022	0,48	0,087	0,28	0,22	-	-	-	-
2-Octenal	1069	0,67	0,79	0,73	0,33	-	-	-	-
Nonanal	1118	5,56	3,41	4,49	0,79	2,76	1,52	2,14	0,39
Nonenal	1171	1,72	1,25	1,48	0,51	-	-	-	-
2-Undecenal	1371	0,59	0,46	0,55	0,41	-	-	-	-
Dodecanal	1414	0,06	0,17	0,12	0,057	-	-	-	-

Compuesto	TRR	SHS-SPME				SHS			
		Olor atípico de tola (n=5)		Total (n=10)	EEM	Olor atípico de tola (n=5)		Total (n=10)	EEM
		No	Sí			No	Sí		
Hexadecanal	1809	0,59	0,21	0,40	0,31	-	-	-	-
<i>Subtotal</i>		226,50 ^a	97,74 ^b	162,12	29,18	27,38	34,82	31,10	3,68
<i>Cetonas</i>									
3-Hidroxibutanona	718	-	-	-	-	-	3,20	1,60	0,37
2,3-Octanodiona	990	5,48	4,69	5,08	1,22	0,18	0,041	0,11	0,05
β -Ionona	1474	0,30	0,40	0,35	0,19	-	-	-	-
<i>Subtotal</i>		5,77	5,09	5,43	1,32	0,18 ^b	3,24 ^a	1,71	0,39
<i>Alcoholes</i>									
3-Metilbutanol	735	-	-	-	-	-	1,4	0,70	0,29
Pentanol	767	-	-	-	-	0,47 ^b	5,08 ^a	1,77	2,1
Hexanol	867	3,40	1,11	2,26	1,59	2,56	1,86	2,21	0,64
Heptanol	971	1,17	0,93	1,05	0,74	0,14 ^b	0,39 ^a	0,27	0,04
1-Octen-3-ol	986	3,27	2,37	2,82	0,71	0,31	0,30	0,30	0,05
3-Etilhexanol	1038	0,44	0,37	0,40	0,33	-	-	-	-
2-Octenol	1079	0,59	0,59	0,59	0,27	-	-	-	-
Octanol	1082	1,20	0,70	0,95	0,34	-	-	-	-
Decanol	1274	0,086	0,087	0,086	0,061	-	-	-	-
Pentadecanol	1773	0,76	0,50	0,63	0,47	-	-	-	-
<i>Subtotal</i>		10,92	6,66	8,79	3,18	3,47	9,03	6,25	2,02
<i>Ácidos</i>									
Ácido hexanoico	848	3,74	3,31	3,52	0,97	0,61	0,10	0,31	0,27
Ácido heptanoico	982	0,20	0,12	0,16	0,14	-	-	-	-
Ácido octanoico	1076	-	0,23	0,11	0,071	-	-	-	-
Ácido nonanoico	1168	0,04	0,18	0,11	0,095	0,20	0,079	0,14	0,10
Ácido decanoico	1270	-	-	-	-	0,48	0,20	0,24	0,17
Ácido hexadecanoico	1930	0,19	0,21	0,20	0,13	-	-	-	-
<i>Subtotal</i>		4,17	4,05	4,11	1,04	1,28	0,079	0,68	0,54
<i>Ésteres</i>									
Metil hexadecanoato	1363	1,57	0,33	0,95	0,86	-	-	-	-
<i>Furanos</i>									
2-Pentilfurano	997	0,102	0,15	0,13	0,092	0,38	0,33	0,36	0,08

Compuesto	TRR	SHS-SPME				SHS			
		Olor atípico de tola (n=5)		Total (n=10)	EEM	Olor atípico de tola (n=5)		Total (n=10)	EEM
		No	Si			No	Sí		
Compuestos									
bencénicos									
Benzaldehído	974	1,91	1,38	1,14	0,82	0,19	0,28	0,19	0,05
Compuestos azufrados									
Azufrado desconocido ^{\$}	1964	5,10	7,26	6,18	4,09				
Desconocidos									
Desconocido ^{\$} I	897	1,52	1,36	1,44	0,75	-	-	-	-
Desconocido ^{\$} II	1030	-	-	-	-	0,34	0,22	0,28	0,05
Total		715,74	486,87	600,80	153,38	40,47	54,38	46,83	5,29

-: Compuestos no detectados.

TRR: Tiempo de retención relativo.

EEM= Error estándar de la media.

^{ab} Ninguna letra en común indica diferencias ($P < 0,05$) entre medias de una misma fila dentro de cada tipo de almacenamiento (prueba de Tukey),

^{\$} Para cada compuesto se muestra la relación de iones con mayor abundancia en función de su relación carga/masa (entre paréntesis se incluye el porcentaje relativo de abundancia). Alcanos desconocidos: I, 57, 56(30), 41(20), 43(13), 99(6), 55(5), 58(4), 53(3), 42(2); II, 71, 43(90), 70(68), 41(25), 55(24), 57(22), 67(7), 44(7), 72(6); III, 43, 71(77), 70(68), 85(53), 57(49), 41(27), 55(27), 72(7), 58(7); IV, 57, 71(85), 43(69), 70(49), 85(30), 41(29), 113(26), 112(26), 56(25); V, 57, 71(52), 43(45), 41(25), 70(24), 85(24), 84(19), 56(19), 55(18), 69(11); VI, 57, 71(90), 56(84), 43(73), 41(61), 69(57), 55(54), 112(42), 70(40); VII, 57, 70(53), 71(40), 115(34), 141(26), 43(25), 83(24), 41(23), 159(22). Azufrado desconocido: 132, 151(76), 135(22), 134(15), 152(11), 77(8), 68(8), 153(7), 105(4). Desconocidos: I, 190, 96(77), 193(58), 133(58), 177(31), 191(21), 163(16), 147(13), 57(12); II, 104, 77(87), 55(55), 56(52), 41(43), 69(41), 84(38), 70(36), 120(35).

Los volátiles detectados en carne de alpaca, con indiferencia del método de extracción, fueron en su mayoría compuestos derivados de la oxidación/degradación lipídica: alcanos, aldehídos y alcoholes de cadena lineal, 2,3-octanodiona y 2-pentilfurano (Frankel, 1982; Elmore *et al.*, 2002). El elevado número y los altos niveles de alcanos y aldehídos con respecto al total de compuestos en el espacio de cabeza de la carne de alpaca, coinciden con lo descrito para carne de rumiantes en otros estudios (Vasta y Priolo, 2006; 2012; Sivadier *et al.*, 2008; Vieira *et al.*, 2012). Además, en concordancia con el sistema de producción extensivo de las alpacas, algunos de los compuestos identificados

son considerados por diversos autores como biomarcadores de pastoreo en carne de rumiante (Vasta y Priolo, 2006; Sivadier *et al*, 2010). Ejemplos de esos compuestos son los alcanos metilramificados de cadena media-larga, los aldehídos heptenal y heptadienal, la 2,3-octanodiona, la β -ionona y el benzaldehído.

La ausencia o presencia de olor atípico en las canales mostró un efecto significativo sobre la concentración de algunos aldehídos y alcoholes: 2-metilbutanal, pentanal, hexanal, pentanol y heptanol ($P < 0,05$; Tabla 1). Como diferencia adicional, hubo dos compuestos no detectados en la carne sin olor atípico y presentes en la carne con olor a tola: 3-hidroxi-2-butanona y 3-metilbutanol. La mayoría de los compuestos con diferencias detectadas (todos menos el hexanal) fueron de bajo peso molecular, con 4 a 5 átomos de carbono y fueron detectados con el método de extracción que incluye SPME. Muchos de estos compuestos tienen bajo umbral de percepción (Forss, 1972; García-González *et al.*, 2008), por lo que con bastante seguridad la diferencia en concentración observada afectaría al sabor de la carne.

La presencia en la carne cocinada de pentanal, hexanal, pentanol y hexanol se ha atribuido a la degradación/oxidación de las grasas (Frankel, 1982; Elmore *et al.*, 1999; Pegg y Shahidi, 2012; Resconi *et al.*, 2013). El hexanal es normalmente el compuesto derivado de la oxidación más abundante en carne cocinada y se le considera un buen indicador de la oxidación de la carne (Shahidi y Pegg, 1994). La mayor presencia de hexanal en carne sin olor atípico (Tabla 1) indicaría, por lo tanto, un mayor grado de oxidación en esta carne. Sin embargo, los otros tres compuestos (pentanal, pentanol y hexanol), que presumiblemente son formados también por degradación/oxidación, fueron superiores en la carne con olor atípico. Esta aparente contradicción lleva a pensar que tuvo lugar una formación de pentanal, pentanol y hexanol más activa en la carne con olor a tola durante el almacenamiento y cocción, con un mecanismo de formación diferente del curso general de la degradación/oxidación lipídica. Por otra parte, no se ha podido establecer tampoco una explicación de la diferencia en concentración de 3-hidroxi-2-butanona, 3-metilbutanal y 3-metilbutanol entre carne con y sin olor atípico. Su presencia en la carne cocinada se ha atribuido a la reacción de Maillard generada en el tratamiento térmico cocinado (Elmore *et al*, 2005). Finalmente, cabe señalar que ninguno de los siete

compuestos que presentaron diferencia entre carne con y sin olor ha sido señalado en la bibliografía consultada como volátil de la carne específica de la dieta o del metabolismo ruminal y tampoco se ha relacionado con sabores atípicos de la carne, que no sea el sabor a carne oxidada, con el que se relacionan unos altos niveles de hexanal (Shahidi y Pegg, 1994).

4.2. Comparación entre técnicas de extracción

Comparando los volátiles detectados entre las dos técnicas de extracción se observa que hubo coincidencia en muchos de los compuestos tanto cualitativa como cuantitativamente (los compuestos mayoritarios fueron mayoritarios en ambas técnicas: hexanal, hexano, nonanal o hexanol). No obstante cabe mencionar que con la técnica SHS se detectaron compuestos de bajo peso molecular (TRR menor a 800) que no fueron detectados cuando se usó la técnica SHS-SPME y que, por el contrario, con la extracción SHS directa no se detectaron compuestos de menor volatilidad (TRR superiores a 1200) que sí se detectaron al usar SPME. También se aprecia que el método SHS-SPME muestra mayor sensibilidad que el SHS (mayores cantidades de volátiles en el primero). Finalmente, la proporción relativa de las distintas familias químicas difiere entre las técnicas de extracción (Tabla 2). Se puede destacar de dicha tabla que el método SHS-SPME mostró más cantidad relativa de alcanos y menos de alcoholes que el método SHS directo. Mallia *et al.* (2005) mencionan que no existe un método ideal para la extracción de compuestos volátiles y que el uso de técnicas distintas produce diferentes perfiles de volátiles del mismo alimento. Es por esto que se aconseja utilizar varias técnicas de extracción para identificar un perfil aromático (Zellner *et al.*, 2008).

5. Conclusiones

De los análisis realizados en este estudio se puede concluir que se ha obtenido un perfil volátil de la carne de alpaca, que a grandes rasgos es característico de carne de rumiante criada en régimen de pastoreo. Por otra parte, se han encontrado mayores cantidades de diversos compuestos volátiles de bajo peso molecular en la carne con olor atípico, que podrían estar relacionados con el olor a tola. No se ha podido establecer un mecanismo fundamentado que explique la mayor presencia de esos compuestos en la carne

con olor atípico a tola. No obstante, se puede pensar que dichos volátiles se podrían usar como marcadores analíticos de carne con olor a tola, aunque haría falta realizar más estudios que impliquen un mayor número de muestras, para confirmar esta suposición.

Tabla 2. Porcentajes de área de las familias de compuestos volátiles sobre área total, obtenidos por medio de espacio de cabeza estático (SHS) con y sin microextracción en fase sólida (SPME) en carne de alpaca

	SHS-SPME	SHS
Alcanos	68,33	14,52
Aldehídos	26,98	66,41
Cetonas	0,90	3,65
Alcoholes	1,46	13,34
Ácidos	0,68	1,45
Ésteres	0,16	-
Furanos	0,02	0,77
Compuestos bencénicos	0,19	0,40
Compuestos azufrados	1,03	-
Desconocidos	0,24	0,60
Total	100	100

-: Compuestos no detectados.

6. Bibliografía

- Aréstegui, D. (2005). Alpaca and vicuña: General perspectives. In Proceedings of the ICAR/FAO seminar, ICAR Technical Series no. 11. Sousse, Túnez. Pp. 31-36.
- Castillo, M. (2006). Embutidos de alpaca: iniciativa empresarial premiada. El comercio. <http://www.infogranjas.com.ar/animales/camelidos/529-embutidos-de-alpaca-iniciativa-empresarial-premiada>. Acceso 25 de enero de 2014.
- David, F., Scanlan, F., Sandra, P., Szelewski, M. (2002). Analysis of essential oil compounds using retention time locked methods and retention times databases, application. Food and flavors. En: Agilent Technologies, Inc. Mayo 1 de 2002. EEUU. Pp. 1-10.
- Elmore, J.S., Campo, M.M., Enser, M., Wood, J.D. (2002). The effect of lipid composition on meat-like model systems containing cysteine, ribose and

- polyunsaturated fatty acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50,1126-1132.
- Elmore, J.S., Cooper, S.L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Wood, J.D. (2005). Dietary manipulation of fatty acids composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science*, 69,233-242.
- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Enser, M., Wood, J.D. (1999). The effect of polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on the profile of aroma volatiles. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47,1619-625.
- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Enser, M., Wood, J.D. (2000). The effects of diet and breed on the volatile compounds of cooked lamb. *Meat Science*, 55,149-159.
- Fairfield, T. (2006). The politics of livestock sector policy and the rural poor in Peru. Pro-Poor Livestock Policy Initiative (PPLPI) Working Paper No. 32, FAO, Rome. 70.
- Faustman C., Sun, Q., Manuni, R., Suman, S.P. (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: Mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86,86-94.
- Fernández-Baca, S. (2005). Situación actual de los Camélidos Sudamericanos en Perú (Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina Referencias bibliográficas 261 TCP/RLA/2914). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Lima, Perú, pp.,63.
- Forss, D.A. (1972). Odour and flavour compounds from lipids. *Progress in Chemistry of Fats and Other Lipids*, 13,181–251.
- Frankel, E.N. (1982). Volatile lipid oxidation products. *Progress in Lipid Research*, 22,1-33.
- García-González, D.L., Tena, N., Aparicio-Ruiz, R., Morales M.T. 2008. Relationship between sensory attributes and volatile compounds qualifying dry-cured hams. *Meat Science*, 80,315-325.
- Genin, D., Alzérrega, H. (2006). Campos nativos de pastoreo y producción animal en la puna semiárida y arida andina. *Science et Changements Planétaires*, 17,265-274.

- Hodgen, J.M., Calkins, C.R. (2012). Red meat flavor. In: Food flavors: Chemical, sensory and technological properties. (Eds.) H. Jelen. CRC Press. Boca Ratón, FL. EEUU, pp.,253-268.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2007). Perú Compendio Estadístico 2007. Lima, Perú.
- Jung, D.M., Ebeler, S.E. (2003). Headspace Solid-Phase Microextraction Method for the Study of the Volatility of Selected Flavor Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51,200-205.
- Leyva Fernández, C. (1988). Producción y mercadeo de carne de alpaca y llama en Perú. 6ª Convención Internacional sobre Camélidos Sudamericanos. Oruro, Bolivia, 9-12 de febrero. Ed. M. y C. Arte Gráfico, Oruro, Bolivia, pp.,243-244.
- Machelis, D., Istase, L. (2003). Evaluation of two commercial solid-phase microextraction fibers for the analysis of target aroma compounds in cooked beef meat. *Talanta*, 61,529-537.
- Madruga, M.S., Elmore, J.S., Dodson, A.T., Mottram, D.S. (2009). Volatile flavor profile of goat meat extracted by three widely used techniques. *Food Chemistry*, 115,1081-1087.
- Mallia, S., Piccicali, P., Rehberger, B., Baderscher, R., Escher, F., Schlichtherle-Cerny, H. (2005). Determination of storage stability of butter enriched with unsaturated fatty acids/conjugated linoleic acid (UFA/CLA) using instrumental and sensory methods. *International Dairy Journal*, 18,938-993.
- Mayta, F. (2014). Cultivo y manejo de pastos. <http://infoalpacas.com.pe/wp-content/uploads/2014/10/ModCultivoManejoPastos.pdf>. Acceso 26 de enero de 2014.
- Mottram, D.S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62,415-424.
- Muñoz, A. (2004). El hábitat de la vicuña (*Vicugna vicugna* Molina, 1872) y su capacidad sustentadora en el altiplano de Parinacota (I Región de Tarapacá, Chile). <http://www.macauley.ac.uk/mac/Publications/munozmacsfinal.pdf>. Acceso 25 de enero de 2014.

- Neely, K., Taylor, C., Prosser, O.Y., Hamlyn, P. (2001). Assessment of cooked alpaca and llama meats from the statistical analysis of data collected using an "electronic nose". *Meat Science*, 58, 53-58.
- Pegg, R.B., Shahidi, F. (2012). Off flavors and rancidity in foods. In: *Handbook of meat, poultry and seafood quality*. 2nd edition. (Ed.) L.M.L. Nollet. John Wiley and Sons. Oxford, Reino Unido, pp.,127-139.
- PNUD (2003), Proyectos demostrativos en bofedales para la crianza de alpacas. Informe final. Subcontrato nº 21.13. Programa de Naciones Unidad para el Desarrollo, Universidad Católica Boliviana y Universidad Nacional del Altiplano-Perú. Disponible en: http://www.alt-perubolivia.org/Web_Bio/PROYECTO/Docum_bolivia/21.13.pdf (acceso: 24 de septiembre de 2013).
- Priolo, A., Vasta, V., Fasone, V., Lanza, C.M., Scerra, M., Biondi, L., Bella, M., Whittington, F.M. (2009). Meat odour and flavour and indoles concentration in ruminal fluid and adipose tissue of lambs fed green herbage or concentrates with or without tannins. *Animal*, 3, 454-460.
- Quispe E. (2011), Adaptaciones hematológicas de los camélidos sudamericanos que viven en zonas de elevadas altitudes. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 5,1-26.
- Quispe, E.C., Rodríguez T.C., Iñiguez L.R., Mueller, J. (2009), Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamerica. *Animal Genetic Information*, 45,1-14.
- Resconi, V.C., Escudero, A., Campo, M.M. (2013). The development of aromas in ruminant meat. *Molecules*, 18,6748-6781.
- Rivas-Cañedo, A., Juez-Ojeda, C., Nuñez, M., Fernández-García, E. (2011). Volatile compounds in ground beef subjected to high pressure processing: A comparison of dynamic headspace and solid-phase microextraction. *Food Chemistry*, 124,1201-1207.
- Rivas-Cañedo, A., Juez-Ojeda, C., Nuñez, M., Fernández-García, E. (2012). Volatile compounds in low-acid fermented sausage "espetec" and sliced cooked pork shoulder subjected to high pressure processing. A comparison of dynamic headspace and solid-phase microextraction. *Food Chemistry*, 132,18-26.

- Rojo, V., Arzamendia, Y., Vilá, B.L. (2012). Uso del hábitat por vicuñas (*Vicugna vicugna*) en un sistema agropastoril en Suripujio, Jujuy. *Mastozoology Neotropical*, 19,127-138.
- Salvá, B.K. (2011). Caracterización de la carne y charqui de alpaca (*Vicugna pacos*). Tesis de Doctorado. Universidad de León.
- Salvá, B.K., Zumalacárregui, J.M., Figueira, A.C., Osorio, M.T., Mateo, J. (2009). Nutrient composition and technological quality of meat from alpacas reared in Peru. *Meat Science*, 82,450-455.
- Schreurs, N.M., W.C. McNabb, M.H. Tavendale, G.A. Lane, T.N. Barry, T. Cummings, K. Fraser, N. López-Villalobos, C.A. Ramírez-Restrepo. (2007). Skatole and indole concentration and the odour of fat from lambs that had grazed perennial ryegrass/white clover pasture or *Lotus corniculatus*. *Animal Feed Science and Technology*, 138, 254-271.
- Shahidi, F., Pegg, R.B. (1994). Hexanal as an indicator of meat flavour deterioration. *Journal of Food Lipids*, 1,177-186.
- Sheath, G.W., Coulon, J.B., Young, O.A. (2001). Grassland management and animal product quality. *Proc. XIX International Grassland Congress*. Sao Paulo, Brasil, pp.,1019-1026.
- Sivadier, G., Ratel, J., Bouvier, F., Engel, E. (2008). Authentication of meat products: determination of animal feeding by parallel GC–MS analysis of three adipose tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56,9803-9812.
- Sivadier, G., Ratel, J., Engel, E., (2010). Persistence of pasture feeding volatile biomarkersin lamb fats. *Food Chemistry*, 118,418-425.
- StatSoft Inc. (2001). Statistica 6.0 software. Tulsa, OK, EEUU: StatSoft. <<http://www.statsoft.com>>.
- Sutherland, M.M., Ames, J.M. (1996). Effect of castration and slaughter age on fatty acids and phenols in sheep adipose tissue. In: *Flavor Science recent development*. Eds. A.J. Taylor and D.S. Mottram. The proceedings of the Eighth Weurman Flavour Research Symposium. Reading, Reino Unido, pp.,19-24.
- Vargas, G.D., Jiménez, P., Villasante, F., (1990). Flora y vegetación altoandina de Tisco-Caylloma (Arequipa). *Zonas Áridas*. No. 6. UN La Molina. La Molina. Perú, pp.,61-74.

- Vasta, P., Priolo, A. (2006). Ruminant fat volatiles as affected by diet: A review. *Meat Science*, 73,218-228.
- Vasta, V., Jerónimo, E., Brogna, D.M.R., Dentinho, M.T.P., Biondi, L., Santos-Silva, J., Priolo, A., Bessa, R.J.B. (2010). The effect of grape seed extract or *Cistus ladanifer* L. on muscle volatile compounds of lambs fed dehydrated lucerne supplemented with oil. *Food Chemistry*, 119,1339-1345.
- Vasta, V., Luciano, G. (2011). The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Ruminant Research*, 101,150-159.
- Vieira, C., Fernández-Diez, A., Mateo, J., Bodas, R., Soto, S., Manso, T. (2012). Effects of addition of different vegetable oils to lactating dairy ewes' diet on meat quality characteristics of suckling lambs reared on the ewes' milk. *Meat Science*, 91,277-283.
- Wackwitz, B., G. Castellaro, H. J. Schwartz, Y A. Raggi. (1999). Botanical composition of the diets of alpaca (*Lama pacos*) and llama (*Lama glama*) in the Andean rangelands of Chile. *Sustainable Technology Development in Animal Agriculture*. Deutscher Tropentag. Berlin, Alemania, pp.,1-6.
- Watkins, P.J., Rose, G., Warner, R.D., Dunshea, F.R., Pethick, D.W. (2012), A comparison of solid phase microextraction (SPME) with simultaneous distillation-extraction (SDE) for the analysis of volatile compounds in heated beef and sheep. *Meat Science*, 91,99-107.
- Wood, J.D., Richardson, R.J., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Asapidou, E., Sheard, P.R. Y Enser, M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21-32.
- Zellner, B.A., Dugo, P., Dugo, G., Mondello, L. (2008), Gas chromatography-olfatometry in food flavour analysis. *Journal of Chromatography A*, 1136,123-143.

CAPÍTULO 4

CAPÍTULO 4

ANÁLISIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES DE LA GRASA DE TERNEROS DE RAZA TUDANCA CRIADOS CON SISTEMAS SEMI-EXTENSIVO O INTENSIVO CON ESPECIAL INTERÉS EN LOS COMPUESTOS TERPÉNICOS

Resumen

La raza Tudanca es tradicionalmente producida bajo sistemas semi-extensivos en la Comunidad de Cantabria, en el noroeste de España, donde se utiliza para la producción de carne. Se sabe que la producción en sistema de pastoreo genera una carne con mayor cantidad de ácidos grasos insaturados, vitamina E, β -carotenos que la carne producida con sistemas intensivos. Además, ciertos compuestos volátiles como la 2,3-octanodiona, escatol y algunos terpenos también están en mayores cantidades en el primer tipo de carne. Se ha indicado incluso que algunos terpenos pueden ser utilizados para reconocer el tipo de dieta a la cual estuvieron sujetos los animales, o bien contribuir a determinar el origen geográfico de los animales en pastoreo. El objetivo del presente trabajo ha sido determinar la diferencia en el contenido de compuestos volátiles en grasa perirenal entre los terneros tudancos criados con un sistema semi-extensivo (SSE; n=8) y los criados con un sistema intensivo (SI; n=8). Para ello se determinaron los compuestos volátiles y terpenos de las correspondientes muestras de grasa perirrenal utilizando dos técnicas: a) extracción-destilación simultánea (SDE) con cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/SM), operando en modo escaneo completo y b) microextracción en fase sólida (SPME) con CG/SM operando en modo escaneo selectivo de iones. Como resultados más relevantes, se encontró que los niveles de diversos aldehídos como el octanal, 2-octenal y 2,4-decadial fueron superiores en el SI, mientras que la 2,3-octanodiona fue mayor en el SSE. En la grasa perirrenal del SSE también se encontraron mayores niveles de compuestos terpénicos α -pineno, α -felandreno, aromadendreno y α -gurjuneno. Se concluye que algunos compuestos volátiles y terpenos podrían ser utilizados para reconocer el sistema de alimentación que se utilizó en la cría de terneros de la raza Tudanca.

1. Introducción

1.1. Denominación Geográfica Protegida

La diferenciación de los alimentos es una estrategia de comercialización que protege alimentos específicos dentro del mercado. Esta diferenciación está fundamentada en las características de calidad del alimento, de acuerdo a gustos, necesidades y valoraciones del consumidor. Estas características de calidad deben ser certificadas para poder garantizar su autenticidad. Finalmente, la diferenciación en el mercado de los productos agroalimentarios se ve plasmada en etiquetas o signos particulares (Gómez y Caldentey, 1999).

Cambra y Villafuerte (2009) indican que la diferenciación de los productos agroalimentarios por su origen geográfico es muy antigua y se basa en conferir un valor especial a un alimento reconociendo en él características específicas relacionadas con una zona en particular. De acuerdo a la Organización Mundial de Propiedad Intelectual, la diferenciación por origen se puede proteger con un logo denominado denominación o indicación geográfica protegida (DGP o IGP; Sainz, 2002).

1.2. Carne de Cantabria y características productivas de la raza Tudanca

Dentro de la región costera del noroeste de la Unión Europea se encuentra la costa del norte de España, que es una zona con gran dedicación a la producción de ganado bovino de carne y leche, caracterizada por el pastoreo y la producción de forraje (Allen *et al.*, 1982). Dentro de esta zona está la Comunidad Autónoma de Cantabria, con condiciones orográficas y climáticas propicias para la producción de pastos y la producción de bovinos en forma extensiva (Martín-Bellido *et al.*, 2001; Anónimo, 2006).

Con base en las características de la región de Cantabria y sus sistemas tradicionales de producción de carne de bovino se ha creado la Indicación Geográfica Protegida “Carne de Cantabria” (Reglamento CE 1483/2004 de la Comisión Europea). Esta IGP especifica entre otros requerimientos los siguientes: i) que la reproducción, crianza y engorde del ganado amparado por esta marca se debe realizar dentro del territorio de Cantabria (Anónimo, 2006), ii) que las razas de los animales cuya carne sea amparada por la IGP son la Tudanca, Monchina, Asturiana, Pardo Alpina, Limusina y sus cruces (Martín-

Bellido *et al.*, 2001; Anónimo, 2006), iii) que los terneros deben de tener un periodo de amamantamiento mínimo de 3 meses y además la alimentación se debe llevar a cabo bajo las normas de aprovechamiento de los pastos de Cantabria (Anónimo, 2006).

De acuerdo al Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA) del Gobierno de España, la raza Tudanca es un bovino en peligro de extinción, autóctono de Cantabria, con aptitud cárnica, que se caracteriza por su dimorfismo sexual a los dos años. Su color puede variar con la edad, sexo, etc. Se adapta muy bien al medio ambiente de la zona donde se cría, con ganancias diarias promedio de 600 g. Su censo poblacional fue de alrededor de 12.373 animales en el año 2013, distribuidos en 425 ganaderías (MAGRAMA, 2014).

En el sistema de producción de esta raza Tudanca, lo más habitual es que las hembras reproductoras sean utilizadas como nodrizas bajo un sistema de producción semi-extensivo. Los terneros son generalmente destetados a los 5 meses de edad y luego vendidos para ser engordados en otros lugares, por lo que se pierde en la región el valor añadido de engordar y vender los animales engordados.

Debido a lo dicho en el párrafo anterior y a que en los países del Mediterráneo europeo se aprecia la carne de ternera de menos de un año de edad, la cría de terneras de entre 9 y 10 meses de edad puede ser una opción interesante para mejorar la rentabilidad de las granjas de ganado Tudanca en Cantabria. Las estrategias que se pueden seguir para el engorde de estos animales incluyen: a) alimentación con pastos simultánea al amamantamiento hasta el sacrificio, con una suplementación limitada de concentrado, o b) la alimentación en base a sistemas intensivos fundamentados en concentrado y forrajes conservados (Humada *et al.*, 2013; Humada *et al.*, 2014).

1.3. Sistemas de alimentación y producción de compuestos volátiles

Los sistemas de producción de rumiantes en pastoreo, especialmente los sistemas más sostenibles, se han asociado con un alto valor medioambiental y de bienestar animal con respecto a los rumiantes que se producen en sistemas intensivos e industriales (Horrigan *et al.*, 2002). Adicionalmente, se ha relacionado el sistema de alimentación de los rumiantes con la calidad de su

carne. De acuerdo a diversas publicaciones realizadas en años recientes se ha observado que la alimentación del ganado vacuno en pastoreo, comparada con la alimentación en estabulación, implica una mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados, vitamina E, β -carotenos en su carne y un menor contenido de grasa intramuscular (Yang *et al.*, 2002; Descalzo *et al.*, 2005; Vasta *et al.*, 2012; Röhrle *et al.*, 2011; Humada *et al.*, 2014).

En base a las diferencias en cuanto a sostenibilidad y calidad de carne entre sistemas de producción, se han realizado investigaciones para buscar posibles compuestos en la carne que puedan ser utilizados como marcadores de consumo de forraje o pasto por los animales (Prache *et al.*, 2005; Serrano *et al.*, 2010; Vasta *et al.*, 2012). Algunos compuestos volátiles como 2,3-octanodiona o escatol han sido propuestos como indicadores de consumo de pasto o forraje (Young *et al.*, 1997; Lane y Fraser, 1999; Calkins and Hodgins, 2007). Priolo *et al.* (2004) mencionan que la 2,3-octanodiona y algunos terpenos tienen potencial para ser usados como indicadores de dietas con forraje. Serrano *et al.* (2010) mencionan que los terpenos se acumulan más en grasa perirenal e intraperitoneal que en la grasa intermuscular y subcutánea; por lo que proponen la grasa perirrenal como tejido de elección para el análisis de estos compuestos.

Los compuestos terpénicos son sintetizados casi exclusivamente por las plantas y su presencia en la carne de rumiantes podría ser un indicador de las dietas basadas en forraje, especialmente forraje verde (Vasta y Priolo, 2006). Prache *et al.* (2005) sugieren que los terpenos pueden ser utilizados para reconocer el tipo de dieta que consumen los animales y también localizar la zona geográfica donde se alimentaron los animales ya que las distintas plantas que constituyen los pastos pueden contener diferentes terpenos (Engel y Ratel, 2007). Vasta *et al.* (2012) sugieren que el germacreno D puede ser un indicador potencial para el pastoreo en praderas de *Lolium perenne* and *Trifolium repens*. También se ha reportado que el β -cariofileno puede ser un biomarcador en carne (Priolo *et al.*, 2003) y en grasa (Sivadier *et al.*, 2008; 2010) de corderos alimentados en pastoreo.

2. Objetivo

El objetivo de este trabajo fue determinar el contenido en volátiles, con especial atención a los compuestos terpénicos, en grasa perirrenal de terneros

de raza Tudanca, comparando el perfil volátil entre la grasa de terneros engordados bajo un sistema semi-extensivo típico de la zona, que incluye amamantamiento y pastoreo, y la de terneros engordados en un sistema intensivo a base de concentrado y forraje conservado. De esta diferencia se podrían sugerir compuestos que sirvan como indicadores de pastoreo en terneros.

3. Materiales y Métodos

3.1. Obtención de las muestras

Se utilizó la grasa perirrenal de 16 terneros de la raza Tudanca para el análisis de compuestos volátiles. Los animales fueron criados en la finca experimental “Aranda” en Cóbreces, España (43°11’32” latitud norte y 04°11’32” longitud oeste, a 84 metros sobre el nivel medio del mar). El clima imperante en el área es atlántico, con una temperatura media máxima de 22,9 °C y una mínima de 4,6 °C.

La mitad de los animales se criaron siguiendo un sistema de producción semi-extensivo (SSE), en el que los terneros se mantuvieron con sus madres hasta la edad del sacrificio, a los 10 meses de edad (163 ± 12 kg de peso vivo). El sistema de pastoreo fue rotacional, en un área de 4,9 Ha dividida en tres partes. Los animales fueron suplementados con cebada *ad libitum* desde los 6 meses de edad. La composición botánica de las praderas se pueden observar en la Tabla 1.

El resto de animales fueron criados bajo un sistema de producción intensiva (SI). Después de ser destetados a los 5 meses de edad se alojaron en un corral de engorde, donde fueron alimentados *ad libitum* con concentrado (maíz, trigo, granos de destilería de maíz solubles, trigo, salvado de trigo, harina de soja, pulpa de remolacha, harina de girasol, melaza, carbonato de calcio, bicarbonato de sodio, cloruro de sodio y fosfato monocálcico; 15,5% de proteína cruda, 2,5% de grasa cruda, 7,0% de fibra cruda y 7% de cenizas) y ensilaje de *rye grass* (*Lolium perenne*; pH de 4,14; 2,5% materia seca, 3,0% de grasa cruda y 9,1% de cenizas) hasta los 9 meses de edad (144 ± 5 kg de peso vivo), cuando fueron sacrificados.

Todos los animales fueron transportados a un matadero comercial localizado a 35 km de la estación experimental y fueron sacrificados de acuerdo

a la legislación europea sobre manejo humanitario de los animales (Reglamento CE 1099/2009).

Las muestras consistieron en aproximadamente 100 g de grasa perirrenal de cada canal tomadas a las 24 h *post mortem* y congeladas a -80 °C hasta su análisis (menos de tres meses). Antes de iniciar el análisis las muestras fueron descongeladas a 4 °C durante una noche y homogeneizadas en un procesador de alimentos.

Tabla 1. Composición botánica (%) de la pradera utilizada para la alimentación de los terneros en el sistema semiextensivo.

Monocotiledóneas	%	Dicotiledóneas	%
<i>Agrostis capillaris</i>	31,1	<i>Trifolium repens</i>	15,6
<i>Lolium perenne</i>	19,2	<i>Trifolium pratense</i>	2,5
<i>Holcus lanatus</i>	17,8	<i>Lotus corniculatus</i>	2,4
Gramínea indeterminada	1,6	<i>Plantago lanceolata</i>	2,0
<i>Dactylis glomerata</i>	1,3	<i>Taraxacum officinale</i>	1,1
<i>Carex spp.</i>	0,8	<i>Hypochoeris radicata</i>	0,9
<i>Poa pratensis</i>	0,6	<i>Plantago major</i>	0,9
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	0,3	<i>Cerastium fontanum</i>	0,5
<i>Cynosurus cristatus</i>	0,2	<i>Bellis perennis</i>	0,3
		<i>Glechoma hederacea</i>	0,3
		<i>Geranium sp.</i>	0,2
		<i>Prunella vulgaris</i>	0,2
		<i>Rumex obtusifolius</i>	0,2
		<i>Ranunculus reptans</i>	0,2

3.2. Determinación de compuestos volátiles extraídos por destilación-extracción simultánea

Los compuestos volátiles de las muestras fueron extraídos por medio de la técnica de destilación-extracción simultánea y posteriormente analizados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). Para la extracción se utilizaron 40 g de grasa homogeneizada, a los que se añadieron 200 ml de agua desionizada en un matraz de 500 ml. La extracción de los volátiles se realizó durante 3 h en un aparato Likens-Nickerson (J&W scientific, Folsom, CA, EEUU). El matraz que contenía la grasa se sumergió en un baño

de glicerina a una temperatura de 150 °C y el matraz con el solvente (250 ml), que contenía 50 ml de éter dietílico, fue sumergido en un baño de agua a 45 °C. El destilado fue concentrado a 1 ml utilizando un concentrador Makro Kuderna-Danish (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EEUU) en un baño de agua a 45 °C, al que posteriormente se añadió sulfato de sodio anhidro para eliminar trazas de agua y el concentrado líquido se transfirió a los correspondientes viales para cromatografía.

Los compuestos volátiles se analizaron en un cromatógrafo de gases CG 7890A acoplado a un detector de espectrometría de masas SM 5975C (Agilent System Zwingen, Suiza). Un μ l del extracto concentrado se inyectó en el puerto de inyección del cromatógrafo, el cual se mantuvo a 260 °C y se operó en modo división de flujo (split) con una relación 1:5. Los compuestos fueron separados utilizando una columna cromatográfica DB-5MS (60 m x 250 μ M x 0,25 μ M; J&W Scientific) y detectados de acuerdo a las indicaciones de Vieira *et al.* (2012). Se utilizó helio como gas portador a un flujo constante de 1,5 ml/min. La temperatura del horno se programó de la siguiente manera: un paso inicial a 35 °C por un minuto, seguido por un incremento lineal de 35 a 50 °C a 10 °C/min, posteriormente se llevó a 200 °C a 4 °C/min, para después ir hasta 250 a 50 °C/min y finalmente esa temperatura se mantuvo por 11 minutos. El espectrómetro de masas operó en modo de impacto de electrones con energía de 70 eV, corriente de emisión a 50 μ A y la detección se llevó a cabo en modo de escaneo completo con una región de barrido m/z de 40–350 a 3,94 escaneos por segundo.

Para su identificación, los compuestos detectados en primer lugar se compararon por su espectro de masas con los contenidos en la base de datos de espectro de masas de NIST/EPA/NIH y en caso necesario se realizó una interpretación personal de los espectros. Además se utilizó una serie de n-alcenos (hidrocarburos /C5-C20; Sigma-Aldrich, St.) para calcular el índice de retención lineal experimental o tiempo de retención relativo (TRR) de cada compuesto volátil. Cuando fue posible la identificación espectral de los compuestos fue confirmada por comparación de sus TRR con los ofrecidos en la bibliografía.

3.3. Determinación de compuestos terpénicos extraídos por microextracción en fase sólida

Para la determinación de los compuestos terpénicos de forma selectiva se extrajeron de las muestras de grasa utilizando una fibra manual para microextracción en fase sólida (SPME) y se analizaron en un CG/SM operando en modo de escaneo selectivo de iones (SIM).

La extracción de los compuestos volátiles se llevó a cabo a partir de 2 g de grasa perirrenal. Una alícuota de grasa fue colocada en un vial de 15 ml de capacidad que fue sellado con una tapa con septo de silicona/politetrafluoretileno (Agilent Technologies). Después, el vial fue sonicado en un baño de agua ultrasónico 200-W (JP Selecta, Barcelona, España) por 20 minutos a 50 °C para conseguir su equilibrio químico, luego se apagó el ultrasonido y se colocó en el espacio de cabeza del vial una fibra de SPME (La fibra previamente se acondicionó a 260 °C por 30 minutos) de 75 µm de sílice fundido carboxeno/polidimetilsilosano (Supelco, Bellefonte, PA, EEUU) manteniéndola expuesta por 50 min a 50 °C. Posteriormente, los compuestos adsorbidos por la fibra SPME fueron desorbidos en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases por 2 min a 260 °C en modo sin división de flujo (splitless). Las condiciones cromatográficas de la columna y el horno fueron las que se describieron anteriormente. La detección se llevó a cabo con el detector operando en modo escaneo selectivo de iones (SIM) para incrementar la especificidad y sensibilidad en la detección de compuestos terpénicos. Los iones m/z 93 y 136 se utilizaron para monitorear los monoterpenos y los iones m/z 93, 136, 161, 189 y 204 para sesquiterpenos (Viallon *et al.*, 2000). Entre los picos del cromatograma, los presuntos compuestos terpénicos fueron detectados primero por medio de interpretación espectral. De esta forma se consideraron como presuntos monoterpenos o sesquiterpenos (detectado, pero no identificado) aquellos compuestos que produjeron picos cromatográficos cuyo espectro mostró los iones monitoreados seleccionados en una proporción apropiada (proporción esperada para esos compuestos). Además, cuando fue posible, los presuntos compuestos terpénicos fueron identificados por comparación y contraste de los tiempos de retención y datos espectrales de los compuestos terpénicos previamente identificados (del análisis de volátiles de destilación extracción-simultánea).

3.4. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza de una vía con la finalidad de determinar el efecto del sistema de alimentación sobre los compuestos volátiles. Los análisis se llevaron a cabo con el programa Statistica para Windows 6.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, EEUU).

4. Resultados y Discusión

4.1. Compuestos volátiles en grasa perirrenal extraída por destilación-extracción simultánea

Los compuestos volátiles de la de grasa perirrenal extraídos con la técnica Lickens-Nickerson se pueden observar en la Tabla 2. Los compuestos se dividieron en diez familias químicas: hidrocarburos alicíclicos-alifáticos (7), aldehídos alifáticos (13), cetonas alifáticas (7), alcoholes alifáticos (1), ácidos alifáticos (2), ésteres (1), furanos (1), compuestos bencénicos (16), compuestos azufrados (1) y compuestos terpénicos (8); además, cuatro picos no fueron identificados. Las familias con mayor concentración fueron los hidrocarburos alifáticos-alicíclicos, aldehídos alifáticos, compuestos terpénicos y cetonas alifáticas. El predominio de hidrocarburos alifáticos y aldehídos en el espacio de cabeza de las muestras coincide con lo señalado en otros estudios de compuestos volátiles de carne o grasa de bovino (Machiels *et al.*, 2003; Insausti *et al.*, 2005; Vasta and Priolo, 2006). La mayoría de los hidrocarburos, aldehídos y cetonas se consideran producto de la oxidación de las grasas (Frankel, 1982; Mottram, 1998). Por otro lado, los compuestos terpénicos tendrían origen alimentario ya que pueden ser transferidos directamente del alimento al tejido animal (Vasta y Priolo, 2006). Varios de los compuestos terpénicos identificados en este estudio han sido previamente descritos en carne de bovino (Moon y Li-Chan, 2004; Insausti *et al.*, 2005; Serrano *et al.*, 2010; Vasta *et al.*, 2012). Sin embargo, hasta donde se ha podido saber, los compuestos terpénicos fencheno, eucaliptol y β -gurjuneno no han sido descritos antes en carne o grasa de bovino. La alta variabilidad en cuanto a calidad y cantidad de los compuestos terpénicos en carne de bovino existente en los diversos estudios consultados, incluyendo los datos del presente estudio, se podría deber al sistema de alimentación del

ganado y a la composición botánica del pasto y forraje (Cornu *et al.*, 2001; Prache *et al.*, 2005; Vasta and Priolo, 2006).

El sistema de alimentación influyó significativamente sobre los compuestos volátiles de grasa perirrenal, lo cual se puede atribuir, al menos parcialmente, a los efectos de la alimentación sobre la composición de la grasa: ácidos grasos y concentración de antioxidantes, por ejemplo la vitamina E (Melton, 1990; Elmore *et al.*, 2004; Descalzo y Sancho, 2008). Los cambios observados en los compuestos volátiles de la grasa de los terneros podrían afectar a sus características de sabor

Los resultados de la Tabla 2 indican que los niveles de aldehídos fueron más bajos en la grasa de los animales provenientes del SSE que en la grasa de los animales del SI. Se encontraron diferencias estadísticas en las concentraciones de octanal, 2-octenal y 2,4-decadienal ($P < 0,05$) y una tendencia estadística para los niveles de decanal, 2-decanal y la suma de aldehídos ($P < 0,1$). Los aldehídos alifáticos son indicativos de la degradación/oxidación de los lípidos de la carne (Shahidi, 2001); por lo tanto, la grasa del SSE fue más estable a la oxidación/degradación de los lípidos. Esta deducción es apoyada por un estudio previo (Soto *et al.*, 2014), donde la carne de los mismos terneros utilizados en este estudio provenientes del SSE, almacenada durante seis días en refrigeración, presentó valores más bajos de sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico que aquella obtenida de los terneros procedentes del SI (0,25 vs 0,8 mg de malonaldehído por kg de carne). La mayor estabilidad de los lípidos del ganado alimentado en pastoreo con respecto al alimentado bajo sistemas intensivos, a base de granos, se ha atribuido al mayor contenido de vitamina E en el primero (Descalzo *et al.*, 2005). Al igual que lo observado con los aldehídos, los niveles de 2-heptanona y 1-octen-3-ona, que también son derivados de la oxidación/degradación de lípidos y probablemente implicados en sabores a rancio en carne de bovino (Resconi *et al.*, 2012), mostraron niveles mayores en grasa del SI.

Por el contrario, los niveles de 2,3-octanodiona, que es una cetona detectada comúnmente en grasa de bovino y que puede generarse por oxidación de los lípidos (Elmore *et al.*, 2004), fueron mayores en la grasa de los animales SSE ($P < 0,05$). Este resultado – más 2,3-octanodiona en carne procedente de animales criados en pastoreo que en los criados en estabulación – concuerda

con lo encontrado en otros estudios, en los que se plantea la posibilidad de utilizar la concentración de 2,3-octanodiona como indicador de una dieta en pastoreo en carne en rumiantes (Vasta y Priolo, 2006; Sivadier *et al.*, 2010; Serrano *et al.*, 2010).

Tabla 2. Compuestos volátiles detectados en grasa perirrenal de terneros alimentados en un sistema de alimentación semi-extensivo y otro intensivo, expresados como unidades de área de pico x 10⁻⁶

	Sistema de alimentación		EEM	P	TRR	Fiabilidad
	Intensivo	Semi-extensivo				
<i>Hidrocarburos alifáticos-alicíclicos</i>						
1,1,4-Trimetilciclohexano	1,09	0,57	0,41	NS	850	MS+LRI
2,2,4-Trimetilheptano	0,41	0,12	0,23	NS	881	MS+LRI
Nonano	1,54	1,72	0,92	NS	900	MS+LRI
Undecano	0,72	0,32	0,58	NS	1100	MS+LRI
Dodecano	19,72	17,34	3,62	NS	1200	MS+LRI
Tetradecano	23,46	21,85	4,22	NS	1400	MS+LRI
Hexadecano	17,23	15,28	3,40	NS	1600	MS+LRI
Suma de alcanos no identificados ^b	20,56	26,15	2,80	NS	-	MS
Suma de alquenos no identificados ^b	4,10	2,71	1,40	NS	-	MS
Subtotal	88,80	86,08	10,52	NS	-	-
<i>Aldehídos alifáticos</i>						
Heptenal	10,37	6,30	1,89	NS	903	MS+LRI
2-Heptenal	4,58	2,14	1,14	NS	962	MS+LRI
Octanal	7,66	3,70	1,26	*	1005	MS+LRI
2,4-Heptadienal	1,78	1,15	0,56	NS	1014	MS+LRI
2-Octenal	6,29	1,96	1,07	*	1061	MS+LRI
Nonanal	15,97	12,10	2,47	NS	1106	MS+LRI
2-Nonenal	5,08	2,85	0,84	NS	1162	MS+LRI
Decanal	2,01	0,92	0,38	#	1208	MS+LRI
2-Decenal	7,25	3,98	1,12	#	1266	MS+LRI
2,4-Decadienal	8,36	2,23	1,38	**	1321	MS+LRI

	Sistema de alimentación		EEM	P	TRR	Fiabilidad
	Intensivo	Semi-extensivo				
2-Undecenal	4,92	2,32	0,82	NS	1371	MS+LRI
Dodecanal	1,67	1,12	0,31	NS	1414	MS+LRI
Tetradecanal	5,13	4,30	0,96	NS	1613	MS+LRI
Subtotal	81,06	45,08	12,91	#		
<i>Cetonas alifáticas</i>						
2-Heptanona	3,50	1,13	0,67	*	890	MS+LRI
1-Octen-3-ona	2,70	0,48	0,57	*	982	MS+LRI
2,3-Octanodiona	11,70	25,08	3,09	*	988	MS+LRI
2-Nonanona	1,43	0,88	0,36	NS	1092	MS+LRI
Decan-2-ona	0,50	0,14	0,26	NS	1193	MS+LRI
2-Undecanona	2,19	2,43	0,57	NS	1295	MS+LRI
2-Tridecanona	23,90	23,24	4,44	NS	1498	MS+LRI
Subtotal	45,92	53,38	8,94	NS	-	-
<i>Alcoholes alifáticos</i>						
1-Octen-3-ol	4,18	1,66	1,37	NS	984	MS+LRI
<i>Ácidos alifáticos</i>						
Ácido decanoico	0,89	1,60	0,75	NS	1365	MS+LRI
Ácido dodecanoico	2,76	4,13	0,43	#	1562	MS+LRI
Subtotal	3,65	5,74	0,84	#	-	-
<i>Ésteres alifáticos</i>						
Etil dodecanoato	15,01	3,08	6,05	NS	1589	MS+LRI
<i>Furanos</i>						
Pentil-furano	9,89	9,52	4,37	NS	994	MS+LRI
<i>Compuestos Bencénicos</i>						
p-Xileno	2,61	2,65	0,60	NS	867	MS+LRI
m-Xileno	1,22	0,66	0,40	NS	869	MS+LRI
Benzaldehído	2,31	3,31	1,46	NS	967	MS+LRI
Acetofenona	1,03	0,21	0,34	#	1070	MS+LRI
m-Cresol	1,50	0,76	0,54	NS	1074	MS+LRI

	Sistema de alimentación		EEM	P	TRR	Fiabilidad
	Intensivo	Semi-extensivo				
Metilbenzoato	0,21	0,21	0,13	NS	1098	MS+LRI
Ácido benzoico	0,32	0,23	0,23	NS	1159	MS+LRI
Indol	5,69	1,14	1,30	*	1299	MS+LRI
1,3-Diisocianato-2-metilbenceno	1,06	0,40	0,64	NS	1355	MS
2,4-Diisocianato-1-metilbenceno.	1,99	0,54	1,47	NS	1361	MS
Escatol	0,58	2,02	0,35	*	1394	MS+LRI
2,6-Di-tert-butilbenzoquinona	7,38	3,35	2,84	NS	1473	MS+LRI
3-Fenildecano	0,69	0,71	0,22	NS	1570	MS+LRI
5-Fenilundecano	1,06	0,48	0,35	NS	1628	MS+LRI
1-Propiloctilbenceno	0,42	0,08	0,17	NS	1636	MS
1-Etilnonilbenceno	1,51	0,50	0,41	NS	1653	MS
Subtotal	29,59	17,25	8,09	NS	-	-
<i>Compuestos azufrados</i>						
Dietil disulfuro	4,79	4,29	0,83	NS	924	MS+LRI
Suma de compuestos azufrados no identificados ^b	1,44	2,43	0,74	NS	-	-
Subtotal	6,23	6,72	0,85	NS	-	-
<i>Compuestos terpénicos</i>						
α-Pineno	1,59	8,95	2,21	*	937	MS+LRI
Fencheno	5,56	5,25	2,08	NS	955	MS+LRI
α-Felandreno	ND	0,48	0,16	-	1009	MS+LRI
Limoneno	3,92	1,62	1,17	NS	1032	MS+LRI
Eucaliptol	ND	2,05	1,20	-	1037	MS+LRI
α-Gurjuneno	ND	3,66	1,01	-	1422	MS+LRI
β-Gurjuneno	0,20	0,52	0,23	NS	1449	MS+LRI
Aromandendreno	0,78	20,62	5,16	**	1456	MS+LRI
Terpénico no identificado	39,7	37,37	5,10	NS	1478	MS
Subtotal	51,87	80,78	9,67	*	-	-

Compuestos desconocidos

	Sistema de alimentación		EEM	P	TRR	Fiabilidad
	Intensivo	Semi-extensivo				
Suma de compuestos desconocidos ^b	9,44	10,20	1,41	NS	-	-
TOTAL	342,1	319,27	40,86	NS	-	-

EEM: Error estándar. P: Nivel de significancia en el análisis of varianza: NS, no significativo; #, $P < 0,1$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; y ***, $P < 0,001$. TRR: Tiempo de retención relativo experimental.

ND: no-detectado.

^a MS: Espectro de masa identificado utilizando la base de datos NIST/EPA/NIH e interpretación personal. TRR: TRR de acuerdo con los valores de la bibliografía para la columna capilar DB-5 (Kondjoyan y Berdagué, 1996; Adams, 2007; NIST, 2011).

^b 7 alcanos no identificados (TRR en orden de abundancia: 1465, 974, 963, 1022, 1374, 1379 y 1357), 5 alquenos no identificados (TRR: 934, 1035, 940, 885 y 910), 3 compuestos azufrados (TRR: 1212, 1260 y 1109) y 9 compuestos no identificados (TRR: 1536, 1527, 1581, 1384, 1640, 1096, 1331, 1647 y 1631).

También, se detectaron diferencias significativas en dos compuestos bencénicos. Así los niveles de indol fueron más altos en la grasa del SI y los niveles de escatol en la grasa de los animales SSE ($P < 0,05$). De estos dos compuestos, la concentración de escatol parece estar más influenciada por la dieta (Vasta y Priolo, 2006). El escatol es un compuesto liposoluble derivado de la degradación de triptófano por acción de los microorganismos del rumen, y su concentración en la grasa o carne parece estar inversamente relacionada con la cantidad de concentrado en la dieta del ganado (Calkins y Hodgen, 2007; Serrano *et al.*, 2010; Vasta *et al.*, 2012).

Finalmente, los terpenos fueron más abundantes en la grasa de animales SSE que los SI (Tabla 2). Los niveles de α -pineno y aromadendreno fueron mayores en grasa de terneros SSE y los compuestos α -felandreno, eucaliptol y α -gurjuneno fueron cuantificados en grasa de SSE, pero no en la grasa de animales del SI. Los resultados concuerdan con los de otros estudios (Vasta y Priolo, 2006; Serrano *et al.*, 2010; Vasta *et al.*, 2012) que indican mayores cantidades de α -pineno y aromadendreno en animales en pastoreo (vs estabulación), como en el presente estudio, así como de otros compuestos terpénicos como α -terpinoleno, β -copaeno, β -cariofileno, α -ilangeno, germacreno D, α y γ -cadineno, no detectados en el presente estudio. La

utilización de ciertos compuestos terpénicos como potenciales marcadores de consumo de forraje o pasto en bovinos de carne ha sido considerada en los estudios mencionados anteriormente. Por el contrario, de acuerdo a lo encontrado en esos estudios y en el presente, la presencia de algunos terpenos en carne o grasa, concretamente, limoneno y β -gurjuneno no están relacionados con el mayor o menor de consumo de forrajes o pastos.

4.2. Compuestos terpénicos en grasa perirrenal extraída por SPME

La relación de terpenos detectados y cuantificados en grasa perirenal utilizando el método de extracción por SPME se encuentran en la Tabla 3. Se detectaron un total de 25 compuestos: 16 monoterpenos y 9 sesquiterpenos. Solamente tres monoterpenos (α -pineno, α -felandreno y limoneno) y tres sesquiterpenos (α -gurjuneno, β -gurjuneno y aromadendreno) pudieron ser completamente identificados a través de la comparación de sus tiempos de retención y los datos espectrales obtenidos del análisis realizado con extracción con SPME con los obtenidos por medio del análisis que se llevó a cabo previamente con la extracción Likens-Nickerson. Los demás compuestos fueron considerados como presuntos terpenos debido a que sus espectros presentaban los iones seleccionados en proporciones adecuadas. De los terpenos identificados completamente, la concentración de aromadendreno fue mayor en la grasa de los animales alimentados en el SSE, mientras que α -pineno, α -felandreno y α -gurjunene fueron detectados únicamente en la grasa del SSE.

Tabla 3. Compuestos terpénicos detectados en la grasa perirenal de terneros de diferentes sistemas de alimentación (expresados como unidades del área del pico $\times 10^{-3}$, entre paréntesis se observa el número de muestras en que los compuestos fueron detectados)

	Sistema de alimentación		EEM	P	TRR
	Intensivo	Semi-extensivo			
<i>Compuestos monoterpenoides identificados positivamente^a</i>					
α- Pineno	ND (0)	102,75 (7)	35,46	-	934
α-Felandreno	ND (0)	42,15 (4)	18,15	-	1007
Limoneno	51,23 (8)	76,51 (8)	17,06	NS	1030
<i>Subtotal</i>	51,23	221,41	62,22	#	
<i>Presuntos monoterpenoides no identificados^b</i>					

	Sistema de alimentación		EEM	P	TRR
	Intensivo	Semi- extensivo			
<i>Monoterpénicos</i>					
I	45,36 (8)	42,46 (8)	9,50	NS	1016
II	30,86 (8)	31,54 (8)	8,21	NS	1017
III	15,42 (7)	20,33 (7)	6,88	NS	1024
IV	25,48 (5)	24,09 (7)	8,81	NS	1058
V	16,38 (7)	18,75 (7)	5,55	NS	1083
VI	9,91 (6)	18,51 (7)	4,17	NS	1085
VII	13,57 (7)	20,08 (7)	4,02	NS	1099
VIII	22,87 (7)	22,39 (6)	5,87	NS	1115
IX	26,62 (8)	22,10 (6)	4,36	NS	1166
X	20,62 (7)	6,68 (3)	3,56	*	1219
XI	172,13 (8)	149,69 (8)	11,62	NS	1264
XII	30,39 (8)	12,72 (6)	3,51	**	1368
XIII	131,13 (8)	113,73 (8)	8,46	NS	1373
<i>Subtotal</i>	560,75	503,08	41,36	NS	
<i>Total de monoterpenoides</i>	612,0	724,5	66,03	NS	
<i>Compuestos sesquiterpénicos identificados positivamente</i>					
α-Gurjuneno	ND (0)	91,85	33,22	-	
β-Gurjuneno	63,28 (8)	73,42 (8)	7,17	NS	1422
Aromandendreno	45,63 (8)	423,07 (8)	106,71	*	1447
<i>Subtotal</i>	108,90	588,34	182,13	#	1455
Total	160,13	809,75	242,85	#	
<i>Sesquiterpénicos</i>					
XIV	11,28 (6)	22,61 (7)	4,63	NS	1465
XV	15,51 (8)	18,39 (8)	2,52	NS	1476
XVI	ND (0)	56,96 (8)	15,62	-	1505
XVII	7,76 (7)	39,24 (8)	10,79	*	1510
XVIII	12,23 (6)	51,15 (8)	18,68	NS	1553
XIX	42,71 (8)	73,77 (8)	13,58	NS	1615
<i>Subtotal</i>	89,49	262,11	37,76	**	
<i>Total de sesquiterpenos</i>	198,39	850,45	165,28	*	
<i>Total</i>	650,23	765,20	71,95	NS	

EE: Error estándar. P: Nivel de significancia encontrado en el análisis of varianza: NS, no significativo; #, $P < 0,1$; * $P < 0,05$;

** $P < 0,01$; y ***, $P < 0,001$. TRR: Tiempo de retención relativo experimental.

ND: no detectado ($< 0,03$ ng/g).

^a Presuntos compuestos terpénicos detectados con los iones seleccionados por interpretación espectral, e identificados por comparación y contraste de los tiempos de retención y datos espectrales para los compuestos terpénicos identificados en el análisis de volátiles por el métodos de destilación-extracción simultánea. (Tabla 2).

^b Presuntos compuestos terpénicos detectados mediante escaneo de iones seleccionados solo por interpretación espectral.

En relación a los presuntos monoterpenos, para la mayoría de ellos (11 de 13 compuestos) no se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los sistemas de alimentación utilizados y las concentraciones de los compuestos X y XII fueron más bajas en grasa de animales alimentados bajo el SSE que en la del SI.

Por otro lado, los niveles de presuntos sesquiterpenos fueron claramente mayores en la grasa del SSE. El total de supuestos sesquiterpenos y el compuesto XVII en particular presentaron diferencias significativas, y el compuesto XVI no fue detectado en la grasa de los animales del SI mientras que la del SSE fue un compuesto importante.

Los resultados obtenidos en este trabajo confirman las observaciones realizadas por Serrano *et al.* (2010). Estos autores encontraron 23 compuestos monoterpénicos en grasa de bovino, de los que solamente tres de ellos fueron afectados por la alimentación (pastoreo vs estabulación), siendo α -pineno y β -terpineno los únicos monoterpénicos que presentaron mayores niveles en la grasa de animales alimentados en pastoreo. También encontraron que los compuestos sesquiterpénicos fueron afectados más acusadamente por el sistema de alimentación que los monoterpénicos.

Finalmente, cabe mencionar que el método utilizado en este estudio para la detección de presuntos monoterpénicos presentó una mayor interferencia y probabilidad de identificar falsos positivos que los sesquiterpénicos, debido a que solamente se escanean dos iones para monoterpenos, mientras que para sesquiterpenos se utilizan 5 iones.

Teniendo en cuenta lo anterior, los resultados de este estudio indican que algunos sesquiterpenos como el aromadendreno, el α -gurjuneno, los compuestos XVI y XVII y el sumatorio de sesquiterpenos, así como los monoterpenos α -pineno y α -felandreno, podrían ser utilizados como biomarcadores de alimentación en pastoreo de terneros de raza Tudanca criados en Cantabria.

5. Conclusiones

El sistema de alimentación de animales de la raza Tudanca afecta la composición volátil de la grasa perirrenal. Las principales diferencias consisten en una disminución de los niveles de octanal, 2-octenal y 2,4-decadial, además de incrementos en los niveles de 2,3-octanodiona, escatol y de los terpenos α -pineno, α -felandreno, aromadendreno, eucaliptol y α -gurjuneno en el sistema semi-extensivo en comparación con el sistema intensivo. Los terpenos α -fencheno, eucaliptol, y α -gurjuneno no han sido descritos en estudios previos sobre volátiles en carne o grasa de bovino. El presente estudio confirma la posibilidad de utilizar 2,3-octanodiona, escatol y varios compuestos terpénicos de la grasa perirrenal como indicadores de consumo de pasto en terneros de raza Tudanca. Se puede plantear para la discriminación entre tipos de alimentación de este ganado, como método rápido, la detección de sesquiterpenos por el método de análisis basado en extracción de volátiles de grasa perirrenal por microextracción en fase sólida y detección por espectrometría de masas con escaneo selectivo de iones.

6. Bibliografía

- Adams, R.P. (2007). Alphabetical listing of compounds with their retention time and arithmetic retention index on DB-5. In: Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th Ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, EEUU, pp.,10-29.
- Allen, D.M., Bougler, J., Christensen, L.G., Jongeling, C., Petersen, P.H. Serventi, P. (1982). Cattle. Livestock Production Science, 9,89-126.
- Anónimo. (2006). El vacuno de carne en el mundo. Ganadería, 38,24-31. http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Gana_d/Ganad_2006_38_24_31.pdf. Consultado en diciembre de 2014.
- Calkins C.R., Hodgen J.M. (2007). A fresh look at meat flavor. Meat Science, 77,63-80.
- Cambra, J., Villafuerte, A. (2009). Denominaciones de origen e indicaciones geográficas: Justificación de su empleo y valorización de su situación actual en España. Mediterráneo Económico, 15,329-350.

Commission Regulation (EC) No 1483/2004 of 20 August (2004) supplementing the Annex to Regulation (EC) No 2400/96 on the entry of certain names in the Register of protected designations of origin and protected geographical indications ('Carne de la Sierra de Guadarrama', 'Ternera de Navarra' or 'Nafarroako Aratxea', 'Carne de Vacuno del País Vasco' or 'Euskal Okela', 'Ternera Asturiana' and 'Carne de Cantabria'. Council Regulation (EC) No 1099/2009 of 24 September 2009 on the protection of animals at the time of killing. http://ec.europa.eu/food/animal/welfare/slaughter/regulation_1099_2009_en.pdf. Consultado en enero de 2014.

Cornu, A., Kondjoyan, N., Frencia, J. P., Berdague, J.L. (2001). Deciphering the message from volatile components of fat tissues. *Viandes and Product Carnes*, 22,35-38.

Council Regulation (EC) No 1099/2009 of 24 September 2009 on the protection of animals at the time of killing. *Official Journal of the European Union* of 18.11.2009, L 303.

Descalzo, A.M., Insani, E.M., Biolatto, A., Sancho, A.M., García, P.T., Pensel, N.A., Josifovich, J.A. (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 75,35-44.

Descalzo, A.M., Sancho, A.M. (2008). A review of natural antioxidants and their effects on oxidative status, odor and quality of fresh beef produced in Argentina. *Meat Science*, 79,423-436.

Elmore, J.S., Warren, H.E., Mottram, D.S., Scollan, N.D., Enser, M., Richardson, R.I., Wood, J.D. (2004). A comparison of the aroma volatiles and fatty acid compositions of grilled beef muscle from Aberdeen Angus and Holstein-Friesian steers fed diets based on silage or concentrates. *Meat Science*, 68,27-33.

Engel, E., Ratel, J. (2007). Correction of the data generated by mass spectrometry analyses of biological tissues: Application to food authentication. *Journal of Chromatography A*, 1154,331-341.

Frankel, E.N. (1982). Volatile lipid oxidation products. *Progress in Lipid Research*, 22,1-33.

Gomez, A.C., Caldentey, P. (1999). Signos distintivos en productos agroalimentarios. *Distribución y Consumo*, 45,67-77.

- Horrigan, L., Lawrence, R.S., Walker, P. (2002). How Sustainable Agriculture Can Address the Environmental and Human Health Harms of Industrial Agriculture. *Environmental Health Perspectives*, 110,445-456.
- Humada, M.J., Sañudo, C., Cimadevilla, C., Serrano, E. (2013). Efecto del sistema de producción y la edad de sacrificio sobre parámetros productivos, calidad de la canal y rendimiento económico de la producción de terneros y añejos de raza Tudanca. *Información Técnica Económica Agraria*, 109,183-200.
- Humada, M.J., Sañudo, C., Serrano, E. (2014). Chemical composition, vitamin E content, lipid oxidation, colour and cooking losses in meat from Tudanca bulls finished on semi-extensive or intensive systems and slaughtered at 12 or 14 months. *Meat Science*, 96,908-915.
- Insausti, K., Goñi, V., Petri, E., Gorraiz, C, Beriain, M.J. (2005). Effect of weight at slaughter on the volatile compounds of cooked beef from Spanish cattle breeds. *Meat Science*, 70,83-90.
- Kondjoyan, N., Berdagué, J.L. (1996). A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds. Theix: Laboratoire Flaveur, Institut National de la Recherche Agronomique, Theix, Francia, pp.,1-234.
- Lane, G.A., Fraser, K. (1999). A comparison of phenol and indole flavour compounds in fat, and of phenols in urine of cattle fed pasture or grain. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 42,289-296.
- Melton, S.L. (1990). Effects of feeds on flavor of red meat: a review. *Journal of Animal Science*, 68,4421-4435.
- Machiels, D., Van Ruth, M.S., Posthumus, M.A., Itasse, L. (2003). Gas chromatography-olfactometry analysis of the volatile compounds of two commercial Irish beef meats. *Talanta*, 60,755-764.
- MAGRAMA. (2014). Raza Bovina Tudanca. <http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/zootecnia/razas-ganaderas/razas/catalogo/peligro-extincion/bovino/tudanca/default.aspx>, consultado en enero de 2015.
- Martín Bellido, M., Escribano Sánchez, M., Mesías Díaz, F.J., Rodríguez de Ledesma Vega, A., Pulido García, F. (2001). Sistemas extensivos de producción animal. *Archivos de Zootecnia*, 50,465-489.

- Moon, S.Y., Li-Chan, E.C.Y. (2004). Development of solid-phase microextraction methodology for analysis of headspace volatile compounds in simulated beef flavour. *Food Chemistry*, 88,141-149.
- Mottram, D.S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62,415-424.
- NIST. (2011). NIST Chemistry Web Book, in P.J. Linstrom and W.G. Mallard (Ed.) NIST Standard Reference Database Number 69. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, EEUU. Disponible en Internet: <http://webbook.nist.gov>. Consultado en enero de 2012.
- Prache, S., Cornu, A., Berdague, J.L., Priolo, A. (2005). Traceability of animal feeding diet in the meat and milk of small ruminants?. *Small Ruminant Research*, 59,157-168.
- Priolo, A., Cornu, A., Prache, S., Krogmann, M., Kondjoyan, N., Micol, D., Berdagué, J.L. (2004). Fat volatiles tracers of grass feeding in sheep. *Meat Science*, 66,475-481.
- Priolo, A., Cornu, A., Krogmann, M., Kondjoyan, N., Micol, D., Berdagué, J.L., Lanza, M. (2003). Terpenes in lamb fat to trace animal grass feeding. *Italian Journal of Animal Science*, 2,581-583.
- Resconi, V.C., Escudero, A., Beltrán, J.A., Olleta, J.L., Sañudo, C., Campo, M.M. (2012). Color, lipid oxidation, sensory quality, and aroma compounds of beef steaks displayed under different levels of oxygen in a modified atmosphere package. *Journal of Food Science*, 77,S10-S18.
- Röhrle, F.T., Moloney, A.P., Osorio, M.T., Luciano, G., Priolo, A., Caplan, P., Monahan, F.J. (2011). Carotenoid, colour and reflectance measurements in bovine adipose tissue to discriminate between beef from different feeding systems. *Meat Science*, 88,347-353.
- Sainz, H. (2002). Alimentos y bebidas con denominaciones de origen y distintivos de calidad: Balance y perspectivas. *Distribución y Consumo*, 64,58-68.
- Serrano, E., Cornu, A., Kondjoyan, N., Agabriel, J., Micol, D. (2010). Traceability of grass feeding in beef: terpenes, 2,3-octanedione and skatole accumulation in adipose tissue of young bulls. *Animal*, 5,641-649.
- Shahidi, F. (2001). Headspace volatile aldehydes as indicators of lipid oxidation in foods. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 488,113-123.

- Sivadier, G., Ratel, J., Bouvier, F., Engel, E. (2008). Authentication of meat products: determination of animal feeding by parallel GC–MS analysis of three adipose tissues. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 56,9803-9812.
- Sivadier G, Ratel J, Engel E. (2010). Persistence of pasture feeding volatile biomarkers in lamb fats. *Food Chemistry*, 118,418-425.
- Soto, S., Fernández-Diez, A., Caro, I., Humada, M.J., Cimadevilla, C., Mateo, J., Serrano, E. (2014). Efecto del sistema de producción sobre las características de la canal, de la carne y de la grasa de terneros de raza Tudanca. 53ª Reunión Científica de la SEEP. (9-12 Junio 2014). *Pastos y Pac 2014-2020*, pp.,437-444.
- Vasta P, Priolo A. (2006). Ruminant fat volatiles as affected by diet: A review. *Meat Science*, 73,218-228.
- Vasta, V., Jerónimo, E., Brogna, D.M.R., Dentinho, M.T.P., Biondi, L., Santos-Silva, J., Priolo, A., Bessa, R.J.B. (2010). The effect of grape seed extract or *Cistus ladanifer* L. on muscle volatile compounds of lambs fed dehydrated lucerne supplemented with oil. *Food Chemistry*, 119,1339-1345.
- Vasta, V., Ventura, V., Luciano, G., Andronico, V., Pagano, R.I., Scerra, M., Biondi, L., Avondo, M., Priolo, A. (2012). The volatile compounds in lamb fat are affected by the time of grazing. *Meat Science*, 90,451-456.
- Viallon, C., Martin, B., Verdier-Metz, I., Pradel, P., Garel, J.P., Coulon, J.B., Berdagué, J.L. (2000). Transfer of monoterpenes and sesquiterpenes from forages into milk fat. *Lait*, 80,635-641.
- Vieira, C., Fernández-Diez, A., Mateo, J., Bodas, R., Soto, S., Manso, T. (2012). Effects of addition of different vegetable oils to lactating dairy ewes' diet on meat quality characteristics of suckling lambs reared on the ewes' milk. *Meat Science*, 91,277-283.
- Yang, A., Brewster, M.J., Lanari, M.C., Tume, R.K. (2002). Effect of vitamin E supplementation on α -tocopherol and β -carotene concentrations in tissues from pasture- and grain-fed cattle. *Meat Science*, 60,35-40.
- Young, O.A., Berdagué, J.L., Viallon, C., Rousset-Akrim, S., Theriez, M. (1997). Fat-borne volatiles and sheep meat odour. *Meat Science*, 45,169-181.

Young, O.A., Lane, G.A., Priolo, A., Fraser, K. (2003). Pastoral and species flavour in lambs raised on pasture, lucerne or maize. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83,93-104.

CAPÍTULO 5

CAPÍTULO 5

EFFECTO DEL USO ACEITES VEGETALES EN LA DIETA DE OVEJAS EN LACTACIÓN SOBRE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE LA CARNE DE CORDERO LECHAL

Resumen

La alimentación con aceites que difieren en su composición de ácidos grasos, como los aceites de palma, girasol, linaza o soja, tiene un efecto sobre la composición de los ácidos grasos presentes en la leche materna y por lo tanto debe afectar a la grasa de los lactantes. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación con diferentes aceites en la dieta de ovejas lactantes sobre los compuestos volátiles de la carne de los corderos criados exclusivamente con leche materna. Para ello, las ovejas fueron alimentadas con dietas suplementadas con un 3% de cada uno de los siguientes aceites: palma, oliva, soja y linaza. Los compuestos volátiles de la carne de los corderos lechales amamantados por esas ovejas se analizaron por extracción del espacio de cabeza estático, seguido de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas. Se detectaron 27 compuestos volátiles, en su mayoría aldehídos (8), compuestos azufrados (4) e hidrocarburos alifáticos (7). La carne de los corderos lechales amamantados por las ovejas que recibieron aceite de soja en la dieta fue la que presentó diferencias en los compuestos volátiles con respecto a los otros tratamientos, que no presentaron diferencias entre sí. Los compuestos para los que se observaron diferencias fueron: pentano, hexano, pentanal, hexanal, heptanal y 1-pentanol, en su mayoría derivados de la degradación del ácido graso C18:2 *n*6.

1. Introducción

1.1. Sistemas de producción ovina en España

En los países europeos, las condiciones medio ambientales así como los sistemas de producción de ovino, difieren entre sí. Son patentes las diferencias entre los sistemas del Mediterráneo con respecto a los del norte y centro de Europa, que se pueden atribuir principalmente a una mayor cantidad de lluvia en los últimos, lo cual trae como resultado una mayor producción de pasto y con ello un mayor potencial productivo. De esta forma, las razas grandes o medianas con buena morfología cárnica, alimentadas con abundantes pastos, se utilizan para

producir carne en los países del norte y centro de Europa (Sañudo *et al.*, 1998). Por otra parte, y según estos autores, aquellas razas más rusticas, pequeñas o de tamaño mediano, con actividad sexual prolongada, con buena producción de leche se adaptan a regiones más difíciles, como las del Mediterráneo, utilizándose de forma tradicional sistemas semi-extensivos de producción basados en aprovechamiento para la alimentación de los animales de pastos en las épocas de mayores precipitaciones, así como restos y subproductos de los cultivos agrícolas.

Los producción ovina en España se desarrolla principalmente en Castilla y León, Extremadura, Castilla-La Mancha, Andalucía y Aragón, con más del 80% de la producción total (Rancourt *et al.*, 2006). Esta producción se puede dividir en diferentes sistemas de acuerdo al producto principal: producción de cordero lechal, ternasco, cordero de cebo precoz, cordero de cebo pesado, pastenco y ovino mayor (Sañudo *et al.*, 1998). Con relación a los sistemas de Castilla y León se pueden mencionar como característicos aquellos que producen leche y cordero lechal, conformados por rebaños de tamaño mediano manejados de forma semi-extensiva para las razas Churra y Castellana (Mantecón y Lavín, 2000), o de forma más intensiva para las razas Assaf y Awassi (Caja y Rancourt, 2002).

El cordero lechal representa el 10% de la producción ovina de carne en España, con pesos de la canal menores a 7 kg, procedentes principalmente de explotaciones productoras de leche, donde el cordero tradicionalmente ha consumido únicamente leche materna. La edad al sacrificio puede variar entre los 25 y 45 días. Ejemplos de las razas lecheras que producen corderos lechales son la Churra, Lacha, Ojalada, Castellana, Manchega y Canaria (Sañudo *et al.*, 1998).

1.2. Modificación de los lípidos de la carne mediante cambios en la dieta de los ovinos

En la carne los lípidos se acumulan en forma de triacilgliceroles en los adipocitos y se localizan en el tejido subcutáneo, intra e intermuscular y abdominal. El tejido graso subcutáneo aumenta más que el intramuscular a medida que se incrementa el peso vivo (Carrasco *et al.*, 2009). De la misma forma, a medida que los animales son más viejos, aumentan los depósitos de

grasa, especialmente los internos, fundamentalmente a través del incremento en el tamaño del adipocito; las hembras depositan más grasa que los machos y animales castrados (Zervas y Tziplakou, 2011). También los lípidos son parte estructural de las membranas celulares formando fosfolípidos, que están presentes en el tejido muscular.

El perfil de ácidos grasos de los lípidos de la carne tiene un gran impacto sobre su calidad, principalmente sobre sus características sensoriales y valor nutricional. Desde este punto de vista, los parámetros nutricionales utilizados para determinar la calidad de una grasa de rumiante son el porcentaje de ácido linoleico conjugado (CLA), los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), la proporción de ácidos grasos $n-6/n-3$ y los AGPI $n-3$ de cadena larga (Ribeiro *et al.*, 2011). Comparado con grasa de otros animales de abasto, la grasa de cordero (al igual que la de vacuno) se caracteriza por un alto contenido de ácidos grasos saturados (AGS) y un bajo contenido de AGPI, debido a la biohidrogenación parcial de éstos últimos por los microorganismos del rumen (Doreau y Ferlay 1994; Enser *et al.*, 1996; Martínez-Marín *et al.*, 2010).

Diversos estudios han demostrado que se puede modificar la calidad de la grasa de la carne de los rumiantes manipulando las dietas de los animales (Wood *et al.*, 2003; Raes *et al.*, 2004; Elmore *et al.*, 2005; Manso *et al.*, 2009; Jerónimo *et al.*, 2012; Francisco *et al.*, 2015). En un estudio previo, Manso *et al.* (2009) alimentaron corderos adicionando un 4% en peso de aceite de palma, soja o girasol en la dieta, con la finalidad de observar el efecto de tal adición sobre los ácidos grasos presentes en grasa intramuscular y subcutánea de los corderos, concluyendo que la grasa subcutánea tiene una mejor respuesta a la modificación de la proporción de ácidos grasos que la intramuscular.

También hay estudios que demuestran cómo se modifica la composición de los ácidos grasos de la leche por medio de la manipulación de la dieta de las ovejas en lactación. Castro *et al.* (2009) encontraron que alimentar ovejas con 12 g/kg de aceite de girasol incrementó el contenido de AGI y CLA cis-9 trans-11 de la leche. Vargas-Bello-Pérez *et al.* (2013) utilizaron aceite de oliva (88 g/kg) para alimentar ovejas y observaron que en su leche se incrementó la concentración de AGMI. Cieslak *et al.* (2010) indicaron que la suplementación de aceites vegetales como el de colza o lino en la dieta de ovejas provoca una disminución los AGS y aumento de las cantidades de AGMI en la leche.

Teniendo en cuenta los anteriores estudios se puede pensar que alimentar a las ovejas en lactación con dietas suplementadas con aceites puede ser una estrategia para modificar y mejorar la calidad de la carne de los corderos lactantes (Lane *et al.*, 2000). No obstante, se han realizado pocos estudios sobre el efecto de la composición de la grasa de la leche de la madre sobre las características de la carne de sus corderos (Valvo *et al.*, 2007; Lureña-Martínez *et al.*, 2010, Manso *et al.*, 2011).

1.3. Efecto de los aceites vegetales en la alimentación de ganado ovino sobre los compuestos volátiles de la carne

Se ha estudiado la alimentación con aceites vegetales en el ganado ovino y se ha observado que tiene un efecto sobre los compuestos volátiles de la carne, mediado en gran medida por modificaciones en el perfil lipídico. Algunos aceites utilizados en esos estudios han sido: aceite de pescado, linaza, girasol, palma y aceites encapsulados (Vasta y Priolo, 2006). Elmore *et al.* (2000), que detectaron 87 compuestos volátiles presentes en carne de cordero, observaron que el incremento en los niveles de aceite de pescado en la dieta de corderos hace que los compuestos derivados de la degradación de los ácidos oleico y linoléico (C18:1 y C18:2), como son los aldehídos monoinsaturados y saturados C7 y C10, alcoholes y cetonas, se incrementen. Sin embargo, no observaron incrementos en los compuestos derivados de los ácidos grasos insaturados con el uso de aceite de linaza. En otro estudio, Elmore *et al.* (2005) observaron como 78 de los 107 compuestos volátiles detectados en carne de cordero fueron afectados significativamente por la composición de la dieta, que varió en función del uso de diferentes aceites vegetales. Los compuestos que mostraron diferencias fueron en su mayoría aquellos originados por oxidación y degradación de los lípidos.

2. Objetivo

El presente trabajo forma parte de un estudio más amplio recogido en los trabajos de Manso *et al.* (2011) y Vieira *et al.* (2012) consistente en alimentar a ovejas en lactación con dietas suplementadas con un 2% de aceites de soja, palma, oliva o lino, estudiando el efecto de dicha suplementación sobre diversos aspectos de la calidad de la carne: color, textura, perfil lipídico, estabilidad a la oxidación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de suplementar

la dieta de las ovejas con esos aceites sobre los compuestos volátiles que se generan en la carne de sus corderos, los cuales se alimentaron exclusivamente con leche materna.

3. Materiales y Métodos

3.1. Preparación de las muestras y diseño experimental

Las muestras que llegaron al laboratorio para la evaluación de los compuestos volátiles procedieron de animales criados en las instalaciones de la Universidad de Valladolid en Palencia (Manso *et al.*, 2011; Vieira *et al.*, 2012), según se describe brevemente a continuación. Se utilizaron 48 hembras gestantes de la raza Churra, las cuales durante la gestación fueron alimentadas con la misma dieta sin adición de grasa en su alimento. Después del parto, las ovejas y sus correspondientes crías fueron asignadas a uno de los tratamientos del experimento, utilizando como criterios clasificatorios de paridad la edad, peso vivo inicial y número de partos ($n = 12$ hembras con prolificidad media de 1,5 corderos). Las ovejas fueron alimentadas con 2,1 kg de una ración mixta, a la cual se le añadió un 3% de cada uno de los siguientes aceites en cada tratamiento: aceite de palma (grupo control), aceite de oliva (OLI), aceite de soya (SOY) y aceite de linaza (LIN). De los corderos recién nacidos ($n=72$), se seleccionaron al azar 9 machos y 9 hembras por tratamiento. Dichos animales fueron agrupados con sus respectivas madres, se mantuvieron todo el día con ellas y fueron alimentados por amamantamiento durante todo el experimento ($28 \pm 6,8$ días) hasta el día del sacrificio, el cual se realizó cuando los lechazos llegaron a un peso vivo de $11,0 \pm 0,5$ kg.

Después del sacrificio, las canales fueron almacenadas en refrigeración a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h. La composición de ácidos grasos, tocoferoles y oxidación de las grasas determinados en el musculo *Longissimus* del lado izquierdo de las canales de los corderos lechales se muestra en la Tabla 1 (Manso *et al.*, 2011; Vieira *et al.*, 2012).

3.2. Composición de volátiles en la carne de los corderos lechales

Los compuestos volátiles de la carne de los corderos lechales fue determinada por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas utilizando espacio de cabeza estático para la recolección de los volátiles.

Tabla 1. Composición de ácidos grasos, tocoferoles y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en grasa intramuscular de corderos lactantes alimentados con aceites de palma, olivo, soja y linaza: CON, OLI, SOY y LIN, respectivamente (Manso *et al.*, 2011; Vieira *et al.*, 2012)

Ácido Graso	Tratamientos				Nivel de significancia
	CON	OLI	SOY	LIN	
Ácido graso (%)					
14:0	4,89 ^a	4,73 ^{ab}	4,46 ^b	4,69 ^{ab}	*
16:0	21,18 ^a	19,21 ^b	19,13 ^b	19,40 ^b	***
18:0	12,72 ^b	13,05 ^a	12,98 ^a	13,28 ^a	*
t9-18:1	0,34 ^c	0,67 ^a ^b	1,03 ^a	0,54 ^{bc}	***
t11-18:1	0,21 ^c	0,33 ^b	0,58 ^a	0,61 ^a	***
c9-18:1	28,46 ^b	31,81 ^a	29,37 ^b	28,77 ^b	**
18:2 n-6	12,06 ^b	11,14 ^b	12,94 ^a	11,86 ^b	***
18:3 n-3	1,04 ^b	0,87 ^b	0,84 ^b	2,11 ^a	***
c9-,t11-18:2	0,66 ^c	0,68 ^c	1,30 ^a	1,13 ^b	***
20:4 n-6	8,42	7,56	7,60	7,63	NS
20:5 n-3	1,02 ^b	0,89 ^b ^c	0,69 ^c	1,38 ^a	***
n-6	20,79 ^b	19,02 ^c	20,85 ^a	19,78 ^b	*
n-3	2,06 ^b	1,76 ^{bc}	1,53 ^c	3,49 ^a	***
n-6/n-3	11,08 ^b	11,83 ^{ab}	13,91 ^a	6,31 ^c	***
AGS	40,96 ^a	39,05 ^b	38,52 ^b	39,37 ^b	***
AGMI	32,99 ^b	36,72 ^a	35,32 ^{ab}	33,78 ^b	***
AGPI	26,05 ^b	24,23 ^b	26,17 ^a	26,85 ^a	**
Tocoferoles (µg/100 g)	148	151	106	121	NS
TBARS (mg/kg)	0,143	0,079	0,137	0,157	NS

AGS, AGMI Y AGPI: Ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados, respectivamente, NS, diferencia no significativa; *, $P<0,05$; ** $P<0,01$; ***, $P<0,001$.

^{abc} Medias de las filas con ninguna letra en común presentan diferencia significativa ($P<0,05$).

Se utilizó el músculo semimembranoso del lado izquierdo para la determinación de los volátiles. Para ello el musculo se cortó, descartando aproximadamente 2 cm de los extremos de cada lado. La parte central se cortó en filetes de 2 cm de grosor. Los filetes fueron cocinados en una parrilla de doble tapa, la cual fue precalentada por 10 min a 220 °C, hasta alcanzar una temperatura interna de 70 °C, de acuerdo a las recomendaciones realizadas por

AMSA (1995) para los procedimientos de cocinado de la carne. Las muestras fueron entonces molidas en un procesador de alimentos. A continuación se pesaron 5 g de muestra, se agregaron 4,7 ml de agua y 0,07 g de NaCl, en un vial con capacidad de 20 ml. Posteriormente, los viales se cerraron herméticamente con tapas y septos de silicona/PTFE (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU) y se colocaron para su análisis en el cromatógrafo.

El análisis de compuestos volátiles se realizó en un cromatógrafo de gases HP-7890A acoplado a un espectrómetro de masas MSD 5975C (MS 5975C; Agilent system Zwingen, Suiza) equipado con un automuestreador CTC CombiPAL (CTC Analytics AG). Se utilizó una columna DB-5MS (60 m de longitud x 0,25 mm de diámetro interno x 0,25 µm de grosor; J&W Scientific, Folsom, CA, EEUU). Se usó helio como gas portador a flujo constante de 1,5 ml/min. Antes de inyectar la muestra los viales fueron equilibrados a 60 °C en el agitador con una velocidad de agitación de 720 rpm, con 5 s encendido y 2 s apagado por 40 minutos. Un ml de gas del espacio de cabeza fue inyectado al cromatógrafo con una jeringa de 2,5 ml de capacidad (CTC Analytics AG). La temperatura de la aguja fue de 100 °C, el llenado e inyección se realizó a 100 µl/s y 250 µl/s, respectivamente. La temperatura de inyección se mantuvo a 260 °C en modo de inyección con división del flujo (split) en una proporción de 2:1. Se usó un inserto (liner) directo, de 2 mm de diámetro interno, desactivada (Agilent, 18749-80220). La temperatura del inyector fueron 260 °C, y el horno se programó de la siguiente manera: un paso inicial a 37 °C por un minuto, seguido por un incremento lineal de 37 a 50 °C a 10 °C/min, posteriormente se llevó de 50 a 146 °C a una velocidad de 40 °C/min, luego se llevó hasta 200 °C a 20 °C/min, para subir hasta 250 a 50 °C/min y finalmente esa temperatura se mantuvo por 11 minutos. El espectrómetro de masas operó en modo de impacto de electrones con energía de 70 eV, corriente de emisión a 50 µA y la detección se llevó a cabo en modo de escaneo completo con una región de barrido m/z de 40–350 a 3,94 escaneos por segundo.

Los volátiles detectados fueron identificados comparando su espectro de masas con los de los compuestos presentes en la base de datos de espectros de masas NIST/EPA/NIH-98 y con interpretación personal de los espectros. Además, se utilizó una serie de n-alcanos, hidrocarburos de cadena lineal de 5 a 20 átomos de carbono, para calcular los tiempos de retención relativos (TRR),

y siempre que fue posible las identificaciones se confirmaron por comparación de los valores de TRR estimados en este trabajo con valores de TRR publicados. Para calcular los TRR de cada uno de los compuestos detectados se empleó la formula descrita por David *et al.* (2002).

La cuantificación se realizó por medio de la comparación del área de los picos de cada compuesto volátil con el área obtenida por cantidades conocidas del undecano (que previamente fue disuelto en hexano y analizado bajo las mismas condiciones que se describieron para las muestras). La cantidad relativa de cada volátil fue expresada en ng de undecano por g de muestra.

3.3. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados bajo un diseño completamente al azar y se llevó a cabo un análisis de varianza para determinar el efecto de la dieta ofrecida a las ovejas sobre los volátiles de la carne de lechazo. Cuando el análisis dio diferencias significativas ($P < 0,05$) se realizó una prueba de comparación múltiple de medias de Duncan con el fin de determinar las diferencias entre los tratamientos. Para el análisis se utilizó el programa Statistica para Windows 6.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, EEUU).

4. Resultados y Discusión

Se identificaron un total de 24 compuestos volátiles en el espacio de cabeza de la carne cocinada de los corderos lechales (Tabla 2). Estos fueron divididos en siete familias químicas: hidrocarburos alifáticos (7), aldehídos (8), alcoholes (2) y cetonas (1), alquil furanos (1), azufrados (4) y compuestos bencénicos (1). Además dos compuestos detectados no pudieron ser identificados.

De entre los volátiles encontrados, seis: pentano, hexano, pentanal, hexanal, heptanal y 1-pentanol, fueron significativamente afectados por el tipo de aceite agregado a la dieta de las ovejas. Todos ellos fueron detectados con un mayor nivel en las muestras de carne del grupo SOY que la carne de los grupos CON, OLI y LIN. Este hallazgo se puede relacionar con la mayor presencia del ácido C18:2 *n*6 en la carne del grupo SOY, según se desprende de un trabajo previo (Tabla 1; Manso *et al.*, 2011), en base a que la mayoría de los compuestos mencionados con mayores niveles en el grupo SOY, el pentano, hexano, octanal, hexanal, heptanal y 1-pentanol son productos secundarios

principales de la degradación del ácido graso C18:2 *n*6 (Frankel, 1982; Grosch, 1987; Elmore *et al.*, 2002; Nieto *et al.*, 2011).

Por el contrario, a pesar de que en la carne de corderos alimentados con OLI y LIN se encontraron mayores proporciones de C18:1 *n*-9 y C18:3 *n*-3, respectivamente, ello no se reflejó en que la composición de volátiles de la carne de estos grupos mostraran contenidos más altos de los principales volátiles originados típicamente de esos ácidos grasos (Frankel, 1982; Grosch, 1987; Elmore *et al.*, 1999; Elmore *et al.*, 2002). No hubo diferencias en volátiles entre los grupos OLI y LIN con el grupo control, ni entre ellos. Esta falta de efecto podría explicarse por dos razones: a) la diferencia entre tratamientos en los niveles de C18:1 y C18:3 *n*3 en la carne pudieron ser insuficientes como para afectar el perfil volátil; y b) los límites de detección de la técnica fueron más altos que las cantidades características de los compuestos volátiles formados de la oxidación de dichos ácidos grasos. Por ejemplo, en favor de la última razón, diversos volátiles producidos típicamente a partir de C18:3 *n*3 como el 4-heptanal, 2,4-heptadienal y 2,6-nonadienal (Elmore *et al.*, 2000; Elmore *et al.*, 2005), no llegaron a ser detectados en este estudio.

Tabla 2. Compuestos volátiles de espacio del cabeza (expresados como ng de undecano por g) en muestras de carne de lechazos cuyas madres tuvieron diferentes tratamientos de alimentación

	Aceites				EEM	<i>P</i>	TRR	Fiabilidad*
	PALM	OLI	SOY	LIN				
<i>Hidrocarburos alifáticos</i>								
Pentano	63,6 ^b	61,8 ^b	87,0 ^a	63,3 ^b	25,7	**	500	MS + TRR
Hexano	7,2 ^b	8,1 ^b	14,5 ^a	10,3 ^b	4,7	***	600	MS
1-Hepteno	1,1	0,9	1,6	1,1	0,8	NS	706	MS + TRR
Heptano	3,6	4,5	4,4	3,6	1,6	NS	700	MS + TRR
Octano	6,5	7,3	7,9	6,1	2,6	NS	800	MS + TRR
Canfeno	4,2	1,2	1,2	1,7	5,6	NS	951	MS + TRR
2,2,4,6,6-Pentametil-heptano	0,7	0,8	0,8	0,8	0,4	NS	983	MS + TRR
Subtotal	86,9 ^b	84,6 ^b	117,4 ^a	86,9 ^b	33,4	**		

	Aceites				EEM	P	TRR	Fiabilidad*
	PALM	OLI	SOY	LIN				
<i>Aldehídos alifáticos</i>								
Butanal	0,7	1,4	0,6	1,0	2,1	NS	413	MS
3-Metilbutanal	0,6	0,3	0,8	0,6	0,1	NS	704	MS
2-Metilbutanal	0,3	0,2	0,2	0,2	0,7	NS	710	MS
Pentanal	13,0 ^b	10,0 ^b	18,5 ^a	12,1 ^b	7,4	**	680	MS + TRR
Hexanal	87,0 ^b	76,3 ^b	121,4 ^a	76,8 ^b	42,8	**	804	MS + TRR
Heptanal	4,1 ^b	5,0 ^b	9,4 ^a	6,3 ^b	3,5	***	895	MS + TRR
Octanal	2,6	2,7	3,0	2,1	1,0	NS	998	MS + TRR
Nonanal	5,6	6,4	6,1	5,3	2,7	NS	1087	MS + TRR
Subtotal	113,8 ^b	102,3 ^b	160,0 ^a	104,4 ^b	55,0	**		
<i>Alcoholes alifáticos</i>								
1-Pentanol	0,2 ^b	0,2 ^b	0,7 ^a	0,1 ^b	0,4	***	682	MS
1-Octen-3-ol	0,7	0,6	1,0	0,7	0,5	NS	948	MS
Subtotal	0,9 ^b	0,8 ^b	1,7 ^a	0,8 ^b	0,8	***		
<i>Alquil furanos</i>								
2-Pentilfurano	1,6	1,4	1,9	1,4	1,0	NS	984	MS + TRR
<i>Cetonas alifáticas</i>								
2,3-Octanodiona	0,8	0,7	1,2	0,7	0,6	NS	950	MS + TRR
<i>Compuestos azufrados</i>								
Metanotiol	44,3	50,4	45,3	44,3	16,0	NS	437	MS
Disulfuro de carbono	43,7	55,9	42,8	28,9	63,8	NS	519	MS
Dimetildisulfuro	0,3	0,1	0,11	0,3	0,6	NS	665	MS
Dimetiltrisulfuro	0,8	0,3	0,2	0,5	1,3	NS	975	MS + TRR
Subtotal	89,1	106,6	88,4	74,0	65,5	NS		
<i>Compuestos bencénicos</i>								
Benzaldehído	0,7	0,6	0,6	0,6	0,2	NS	967	MS + TRR

	Aceites				EEM	P	TRR	Fiabilidad*
	PALM	OLI	SOY	LIN				
<i>Desconocido</i>								
57, 70 (57), 71 (41), 115 (30), 41 (26), 83 (26), 141 (22)	2,5	0,3	0,1	0,1	4,1	NS	1669	
105, 77 (36), 170 (21), 44 (14), 51 (11), 134 (75), 106 (72), 75 (70)	1,1	0,1	0,7	1,4	2,2	NS	1798	
Subtotal	3,5	0,4	0,7	1,4	5,2	NS		
Volátiles totales	297,4	297,3	371,9	270,1	119,5	NS		

EEM: Error estándar de la media, P: Nivel de significancia: NS, no significativo; **, $P < 0,01$ and ***, $P < 0,001$, TRR: Tiempo de retención relativos (Columna DB-5MS), MS: Espectro de masas identificado utilizando NIST/EPA/NIH Mass spectral Database e interpretación personal, TRR: Tiempo de retención relativo de acuerdo con la literatura (Kondjoyan y Berdagué, 1996).

^{a,b,c}: Literales diferentes en filas indican diferencia significativa entre los tratamientos utilizando una prueba de Duncan ($P < 0,05$); ND: Compuesto no detectado.

La repercusión sensorial de la diferencia en el contenido de compuestos volátiles de la carne cocinada encontrada entre el grupo SOY y los otros tratamientos no parece fácil de interpretar. Por un lado, se puede deducir que la mayor presencia de pentanal, hexanal y heptanal en el grupo SOY podría ser responsable de variación en el sabor de la carne de este grupo con respecto a los otros, debido a que esos componentes tienen bajos límites de detección de aromática (Forss, 1972; Drumm y Spanier, 1991). Además, las notas aromáticas de dichos compuestos cuando son detectados en carne están bien definidos, generando notas a almendra-acre-verde; graso-hierba; graso-hierba-tostado-rancio; respectivamente (Calkins y Hodgen, 2007; Xie *et al.*, 2008). Sin embargo, por otro lado, en otros estudios se han descrito compuestos importantes que influyen en olor en el aroma a cordero, los cuales podrían estar presentes en las muestras analizadas, aunque debido a las limitaciones del método de extracción, no pudieron ser detectados. Entre ellos cabe destacar el decanal, (2E, 4E)-heptadienal, (E) 2-heptenal, (Z) 2-nonenal, (2E, 4E) 2,4-decadienal y la 1-octen-3-ona (Resconi *et al.*, 2010). Estos compuestos no pudieron ser detectados en este estudio con el método utilizado, por lo que no se pudo dilucidar si estaban en mayor o menor concentración en uno u otro grupo.

En otro estudio paralelo a este se realizó un análisis sensorial y los resultados de ese análisis no concordaron con el análisis de compuestos volátiles. Los panelistas no fueron capaces de diferenciar la carne del grupo SOY de la carne del grupo control, ni de la del grupo OLI. Sin embargo, encontraron la carne del grupo LIN (más rica en C18:3) diferente a la del resto de los grupos. La carne LIN fue peor valorada que el resto respecto a su olor, sabor y aceptación general. Este resultado hace pensar en la eventual presencia de compuestos volátiles responsables del aroma en la carne LIN que no fueron detectados por el método analítico y, a la vez, que las diferencias en los volátiles detectados entre SOY y el resto no fueron suficientes para hacer diferente el aroma de SOY desde un punto de vista sensorial. La relevancia del ácido graso C18:3 en el aroma de la carne ha sido puesto de manifiesto por Wood *et al.* (2003).

5. Conclusiones

La carne de animales cuyas madres se alimentaron con aceite de soja mostró diferencias significativas en algunos compuestos volátiles (pentano, hexano, pentanal, hexanal, heptanal y 1-pentanol) con respecto al resto de los tratamientos, que no presentaron diferencias entre sí. Este hallazgo se puede relacionar con la mayor presencia del ácido C18:2 *n*6 en la carne del grupo soja, según se desprende de un trabajo previo, ya que de acuerdo a la bibliografía la mayoría de los mencionados volátiles son compuestos originados de dicho ácido graso.

Teniendo en cuenta lo expresado en el párrafo anterior y los resultados de un estudio previo donde se analizó sensorialmente a la carne y se observó que la carne del tratamiento aceite de lino era diferente al resto y que la carne de los otros tres tratamientos no presentó diferencias sensoriales entre sí, se deduce lo siguiente: por una parte, el método de análisis de compuestos volátiles utilizado, basado en el espacio de cabeza estática, no ha llegado a detectar compuestos volátiles responsables del sabor diferenciado (y menos apreciado) de la carne de los animales cuyas madres se alimentaron con aceite de lino, con más cantidad de C18:3 *n*3. Por otra parte, las diferencias en el perfil volátil detectadas en las muestras de carne de corderos cuyas madres se alimentaron con aceite de soja, no fueron suficientes como para observar diferencias sensoriales en esta carne respecto a los tratamientos control (aceite de palma) y aceite de oliva.

6. Bibliografía

- AMSA. (1995). Research guidelines for cookery, sensory evaluation and instrumental tenderness measurements of fresh meat. American Meat Science Association in cooperation with National Livestock and Meat Board. Chicago, IL, EEUU, pp.,47.
- Caja, G., Rancourt, M. (2002). Situation actuelle et perspectives de la production des ovins laitiers en Espagne. Options Méditerranéennes. Série B, 39,57-66.
- Calkins, C.R., Hodgen, J.M. (2007). A fresh look at meat flavor. Meat Science, 77,63-80.
- Carrasco, S., Ripoll, G., Sanz, A., Álvarez-Rodríguez, J., Panea, B., Revilla, R., Joy, M. (2009). Effect of feeding system on growth and carcass characteristics of Churra Tensina light lambs. Livestock Science, 121,56-63.
- Castro, T., Manso, T., Jimeno, T., Del Álamo, M., Mantecón, A.R. (2009). Effects of dietary sources of vegetable fats on performance of dairy ewes and conjugated linoleic acid (CLA) in milk. Small Ruminant Research, 84,47-53.
- Cieslak, A., Kowalczyk, J., Czauderna, M., Potkanski, A., Szumacher-Strabel, M. (2010). Enhancing unsaturated fatty acids in ewe's milk by feeding rapeseed or linseed oil. Czech Journal of Animal Science, 55, 496-504.
- David, F., Scanlan, F., Sandra, P., Szelewski, M. (2002). Analysis of Essential Oil compounds Using Retention Time Locked Methods and Retention Times Databases, Application, Food and Flavors. En: Agilent Technologies, Inc., Mayo 1 de 2002, EEUU, pp.,1-10.
- Doreau, M., Ferlay, A. (1994). Digestion and utilization of fatty-acids by ruminants. Animal Feed Science and Technology, 45, 379-396.
- Drumm, T.D., Spanier, A.M. (1991). Changes in the content of lipid autoxidation and sulfur-containing compounds in cooked beef during storage. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 39,336-343.
- Elmore, J.S., Campo, M.M., Enser, M., Wood, J.D. (2002). The effect of lipid composition on meat-like model systems containing cysteine, ribose and polyunsaturated fatty acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50,1126-1132.

- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Enser, M., Wood, J.D. (1999). The effect of polyunsaturated fatty acid composition of beef muscle on the profile of aroma volatiles. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47,1619-1625.
- Elmore, J.S., Cooper, S.L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Wood, J.D. (2005). Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science*, 69,233-242.
- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Enser, M., Wood, J.D. (2000). The effects of diet and breed on the volatile compounds of cooked lamb. *Meat Science*, 55,149-159.
- Enser, M., Hallett, K., Hewitt, B., Fursey, G.A.J., Wood, J.D. (1996). Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. *Meat Science*, 42,443-456.
- Forss, D.A. (1972). Odor and flavor compounds from lipids. *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids*, 13,177-258.
- Francisco, A., Dentinho, M.T., Alves, S.P., Portugal, P.V., Fernandes, F., Sengo, S., Jeronimo, E., Oliveira, M.A., Costa, P., Sequeira, A., Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J.G. (2015). Growth performance, carcass and meat quality of lambs supplemented with increasing levels of a tanniferous bush (*Cistus ladanifer* L.) and vegetable oil. *Meat Science*, 100,275-282.
- Frankel, E.N. (1982). Volatile lipid oxidation products. *Progress in Lipid Research*, 22,1-33.
- Grosch, W. (1987). Reactions of hydroperoxides - Products of low molecular weight, In: (Eds.) H.W.S. Chan. *Autooxidation of unsaturated*. Academic Press. London. Reino Unido, pp.,95-139.
- Jerónimo, E., Alfaia, C.M.M., Alves, S.P., Dentinho, M.T.P., Prates, J.A.M., Vasta, V., Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B. (2012). Effect of dietary grape seed extract and *Cistus ladanifer* L. in combination with vegetable oil supplementation on lamb meat quality. *Meat Science*, 92,841-847.
- Kondjoyan, N., Berdagué, J.L. (1996). A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds (pp. 1-234). *Theix: Laboratoire Flaveur*. Institut National de la Recherche Agronomique.

- Lane, M.A., Baldwin, R.L., Jesse, B.W. (2000). Sheep rumen metabolic development in response to age and dietary treatments. *Journal of Animal Science*, 78,1990-1996.
- Lureña-Martínez, M.A., Palacios, C., Vivar-Quintana, A.M., Revilla, I. (2010). Effect of the addition of calcium soap to ewes' diet on fatty acid composition on ewe milk and subcutaneous fat of suckling lambs reared on ewe milk. *Meat Science*, 84,677-683.
- Manso, T., Bodas, R., Castro, T., Jimeno, V., Mantecón, A.R. (2009). Animal performance and fatty acid composition of lambs fed with different vegetable oils. *Meat Science*, 83,511-516.
- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Mantecón, A.R., Castro, T. (2011). Feeding vegetable oils to lactating ewes modifies the fatty acid profile of suckling lambs. *Animal*, 5,1659-1667.
- Mantecón, A.R., Lavín, P. (2000). Producción de leche de oveja: la región de Castilla y León (España) como modelo. *Cuadernos del CEAgro*, 2,139-152.
- Martin Bellido, M., Escribano Sánchez, M., Mesías Díaz, F.J., Rodríguez de Ledesma Vega, A., Pulido García, F. (2001). Sistemas extensivos de producción animal. *Archivos de Zootecnia*, 50,465-489.
- Martínez Marín, A.L., Pérez Hernández, M., Pérez Alba, L., Gómez Castro, G. (2010). Digestión de los lípidos en los rumiantes: una revisión. *Interciencia*, 35,240-246.
- Nieto, G., Bañón, S., Garrido, M.D. (2011). Effect of supplementing ewes' diet with thyme (*Thymus zygis* ssp, *gracilis*) leaves on the lipid oxidation of cooked lamb meat. *Food Chemistry*, 125,1147-1152.
- Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D. (2004). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 113,199-221.
- Rancourt, M., Fois, N., Lavin, M.P., Tchakerian, E., Vallerand, F. (2006). Mediterranean sheep and goats production: An uncertain future. *Small Ruminant Research*, 62,167-179.
- Resconi, V.C., Campo, M.M., Montossi, F., Ferreira, V., Sañudo, C., Escudero, A. (2010). Relationship between odour-active compounds and flavour

- perception in meat from lambs fed different diets. *Meat Science*, 85,700-706.
- Ribeiro, C.V.D.M., Oliveira, D.E., Juchem, S.O., Silva, T.M., Nalério, S. (2011). Fatty acid profile of meat and milk from small ruminants: a review. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40,121-137.
- Sañudo, C., Sanchez, A., Alfonso, M. (1998). Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Science*, 49,S29-S64.
- Valvo, M.A., Lanza, M., Bella, M., Fasone, V., Scerra, M., Biondi, L., Priolo, A. (2007). Effect of ewe feeding system (grass vs concentrate) on intramuscular fatty acids of lambs raised exclusively on maternal milk. *Animal Science*, 81,431-436.
- Vargas-Bello-Pérez, E., Vera, R.R., Aguilar, C., Lira, R., Peña, I., Valenzuela, A., Cerda, H. (2013). Effect of dietary inclusion of lampante olive oil on milk and cheese fatty acid profiles of ewes. *Grasas y Aceites*, 64,295-303.
- Vasta, V., Priolo, A. (2006). Ruminant fat volatiles as affected by diet. A review. *Meat Science*, 73,218-228.
- Vieira, C., Fernández-Diez, A., Mateo, J., Bodas, R., Soto, S., Manso, T. (2012). Effects of addition of different vegetable oils to lactating dairy ewes' diet on meat quality characteristics of suckling lambs reared on the ewes' milk. *Meat Science*, 91,277-283.
- Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R., Enser, M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: A review. *Meat Science*, 66,21-32.
- Xie, J., Sun, B., Zheng, F., Wang, S. (2008). Volatile flavor constituents in roasted pork of Mini-pig. *Food Chemistry*, 109,506-514.
- Zervas, G., Tsiplakou, E. (2011). The effect of feeding systems on the characteristics of products from small ruminants. *Small Ruminant Research*, 101,140-149.

CAPÍTULO 6

CAPÍTULO 6

EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE LA LECHE CON ÁCIDO CARNÓSICO SOBRE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DE LA CARNE DE CORDERO LECHAL

Resumen

La carne de cordero lechal es un producto importante en España, especialmente en la zona de Castilla y León. La utilización de antioxidantes en la alimentación de los lechales puede ser útil en la prevención de la oxidación de los lípidos de la carne. El uso de antioxidantes naturales se ha propuesto como una alternativa en producción animal, debido a la controversia que tiene el uso de antioxidantes sintéticos sobre la carne y los productos cárnicos. El ácido carnósico es un componente del romero que ejerce un marcado efecto antioxidante en las grasas. El objetivo del presente trabajo fue determinar si la inclusión de ácido carnósico en la dieta de corderos lactantes en dosis diarias de 0,096 g/kg de peso vivo puede reducir la oxidación de lípidos de la carne. Para ello, se determinaron los compuestos volátiles por cromatografía de gases de carne de corderos lechales provenientes de tres tratamientos, uno con el uso de ácido carnósico en la leche maternizada, otro con vitamina E y un control. Antes de la determinación de los compuestos volátiles, la carne se cocinó y almacenó uno o siete días a refrigeración. Se encontró que los niveles de hexanal, heptanal, octanal, nonanal y la suma de carbonilos volátiles fueron más bajos en el tratamiento con vitamina E, y en los otros dos tratamientos no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$). Se concluye que en este estudio no se demuestra que la utilización de ácido carnósico en la leche maternizada de los corderos en las dosis estudiadas pueda incrementar la estabilidad de la carne de cordero lechal, ni cambiar el perfil volátil con respecto a la carne control. Sin embargo, el uso de vitamina E, sí reduce los volátiles indicadores de oxidación de las grasas.

1. Introducción

1.1. La carne de cordero lechal

La carne de cordero lechal es un producto de alta calidad, que se basa en su ternura, jugosidad, bajos niveles de grasa, color rosa pálido y palatabilidad (Gorraiz *et al.*, 2000; Martínez-Cerezo *et al.*, 2005; Teixeira *et al.*, 2005). No

obstante, su calidad depende de varios factores como la raza, el peso al sacrificio (Martínez-Cerezo *et al.*, 2005; Teixeira *et al.*, 2005), la maduración de la carne (Martínez-Cerezo *et al.*, 2005), el sexo (Teixeira *et al.*, 2005) o el sistema de producción (Wilches *et al.*, 2011). Esta calidad, junto con los sistemas de producción tradicionales es la razón por la cual en diversas zonas de Europa Mediterránea es común el consumo de carne de cordero lechal, el cual se sacrifica entre los 25 y 45 días de edad con pesos de la canal de 7 kg (Bernabéu y Tendero, 2005; Sañudo *et al.*, 2007).

Después de consumir unos días calostro, los corderos son alimentados con leche materna o con sustitutos de leche en las granjas productoras de leche. Esta última opción se utiliza en los sistemas de producción más intensivos. Los sustitutos incluyen diferentes fuentes vegetales de lípidos en su formulación. Por ello la carne de los corderos alimentados con sustitutos de leche tienen niveles más altos de ácidos grasos *n6* que aquellos que son alimentados únicamente con leche materna (Napolitano *et al.*, 2002; Osorio *et al.*, 2007). Se sabe que la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados y la oxidación de los lípidos son factores relacionados que pueden favorecer la formación de color y sabor no deseable en la carne almacenada (Addis *et al.*, 1989; Gray *et al.*, 1996). Por este motivo, el retrasar la oxidación de la grasa es importante para el sector cárnico.

1.2. Uso de antioxidantes en la alimentación de ganado ovino

Los tipos de inhibidores de la oxidación de los lípidos se pueden clasificar de la siguiente manera: inhibidores de reacciones de oxidación por radicales libres, inhibidores de la propagación de la autooxidación, secuestradores del oxígeno, sinérgicos de antioxidantes, agentes reductores, quelantes de metales e inhibidores de enzimas prooxidantes (Pokorný, 2007). Los compuestos antioxidantes presentes en los alimentos pueden ser naturales o sintéticos.

Uno de los métodos más comunes para reducir la oxidación en la carne y productos cárnicos es el uso de antioxidantes sintéticos (Decker and Xu, 1998). Entre ellos cabe destacar algunos compuestos fenólicos como el hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), galato de propilo; o bien agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetracético (EDTA) (Brewer, 2011). Estos antioxidantes pueden agregarse directamente al alimento y también se utilizan como antioxidantes de los alimentos para los animales. Como ejemplo

específico, el BHT es utilizado en los sustitutos de leche para los corderos y otros alimentos para animales como aditivo alimentario. El BHT del alimento se incorpora en los tejidos del animal que lo consume y posteriormente puede también ejercer su efecto antioxidante en la carne (Osorio *et al.*, 2008).

La presencia de antioxidantes sintéticos en los alimentos es controvertida desde un punto de vista de la salud de los consumidores, por su potencial efecto perjudicial para la salud (Jeronimo *et al.*, 2012). En ese sentido, el uso de compuestos naturales de origen vegetal en la alimentación humana y animal es considerada como una alternativa importante para reducir la oxidación de los lípidos de la carne (Brewer, 2011; Jeronimo *et al.*, 2012).

1.3. El romero como antioxidante natural

Una gran cantidad de hierbas, especias (romero, orégano, tomillo, pimienta, clavo, canela) y extractos de plantas (té o pomelo) contienen compuestos antioxidantes con potencial para su uso en alimentos (Rubió *et al.*, 2013). Su efecto antioxidante se debe a moléculas como los polifenoles, los carotenos, tocoferoles, etc. Los antioxidantes naturales tienen la capacidad de eliminar los radicales libres, absorber la luz ultravioleta en la región de 100 a 400 nm o quelar metales (Brewer, 2011).

El romero contiene altas concentraciones de compuestos fenólicos y flavonoides, que le permite tener una alta capacidad antioxidante (Chen *et al.*, 2007). Los principales compuestos antioxidantes del romero son diterpenos (carnósico, carnosol, rosmanol, rosmadial, ácido 12-metoxicarnósico, epi e iso-rosmanol) y ácidos fenólicos (rosmárico y cafeínico), como lo explica Brewer (2011). Sin embargo, las propiedades antioxidantes del romero se le atribuyen principalmente al ácido carnósico (Moñino *et al.*, 2008).

Hay estudios recientes que buscan encontrar el efecto de alimentar corderos con romero o extractos de romero sobre la estabilidad lipídica de su carne. Ortuño *et al.* (2014) observaron que la alimentación de los animales con bajos niveles de una mezcla de ácido carnósico:carnosol (1:1; 200 a 400 mg por kg de alimento) fue efectivo para mejorar la conservación de la carne. Además se ha probado que el ácido carnósico proporcionado en diferentes concentraciones en la dieta de los corderos influye negativamente sobre la oxidación de la carne en corderos (Morán *et al.*, 2012a; Morán *et al.*,

2012b; Morán *et al.*, 2013). También se han utilizado extractos de romero en la dieta de ovejas en lactación para evaluar su efecto sobre la oxidación de la grasa de los corderos (Nieto *et al.*, 2010; Nieto *et al.*, 2011), encontrando que la suplementación de la dieta de las ovejas con romero mejoró la estabilidad lipídica de la carne. En definitiva, en estos trabajos se ha observado que el romero o sus extractos en la dieta puede ser útil para retrasar la oxidación de los lípidos, mejorar el color y estabilizar el sabor de la carne, además de evitar la oxidación del colesterol. Sin embargo, no siempre los resultados han sido positivos, Smeti *et al.* (2013) utilizaron un aceite esencial de romero (0,06%) en dietas ofrecidas a corderos de la raza Barbarine y no encontraron mejora en la oxidación de la grasa, ni de la calidad de la carne.

2. Objetivo

El objetivo del presente estudio fue determinar si la inclusión de ácido carnósido en la dieta (lactorremplazante) de corderos lechales en dosis diarias de 0,096 g/kg de peso vivo puede reducir la oxidación de lípidos de la carne y/o afecta a su perfil volátil.

3. Materiales y Métodos

3.1. Manejo y sacrificio de los animales

Las muestras de carne (piernas de lechazo) que llegaron al laboratorio procedían de los animales que describen en los trabajos de Moran *et al.* (2013 y 2014). Se utilizaron 24 animales de la raza Assaf de aproximadamente 6 kg de peso vivo al inicio del experimento. Los corderos fueron retirados de la madre después de que tomaron calostro (a los 3 días de vida), cuando se pasaron a alimentación artificial por medio de una amamantadora. Los corderos fueron asignados a cada uno de los tratamientos (8 por tratamiento): uno control sin suplementación con antioxidante, otro con suplementación con ácido carnósido (0,096 g/kg de peso vivo; PV) y un tercero con suplementación con vitamina E (acetato de α -tocoferol; 0,024 g/kg de PV). Los animales fueron alojados en un corral y se les suministró leche en polvo comercial, libre de BHT, *ad libitum*. Cuando se administraba el antioxidante, los corderos fueron separados de la amamantadora durante dos horas, ello con el fin de asegurar el consumo del antioxidante en su totalidad. El antioxidante se diluyó en leche en biberones

individuales de acuerdo a la dosis apropiada para cada animal. Los animales fueron alimentados de acuerdo a cada uno de los tratamientos hasta alcanzar 11,5 kg de PV, para posteriormente ser sacrificados. El sacrificio se realizó en cuatro tandas de 6 animales, dos por cada tratamiento, siguiendo el método tradicional de matanza en la región que incluye el aturdimiento eléctrico. Las canales fueron pesadas inmediatamente después del sacrificio. Posteriormente, las canales se mantuvieron en una cámara frigorífica a 4 °C por 24 horas. Al finalizar este tiempo las canales se volvieron a pesar y se hizo el despiece, de donde se obtuvieron las piernas que también fueron pesadas. Las piernas se mantuvieron en una cámara frigorífica a 4 °C durante un periodo de entre 18 y 42 horas hasta llegar al laboratorio.

3.2. Preparación de las muestras

El musculo *Biceps femoral* fue separado de la pierna y se cortó en tres secciones perpendiculares al eje longitudinal. Las secciones distal y proximal (1,5 cm de longitud) fueron eliminadas y la parte central fue cortada en filetes de 2 cm de grosor, que se asignaron al azar a dos tiempos de almacenamiento (1 y 7 días). Ambos filetes fueron cocinados en un doble grill (precalentado a 220 °C) hasta que el interior de la carne alcanzó los 70 °C (AMSA, 1995). Seguidamente se mantuvieron 30 minutos a temperatura ambiente (20 °C) y se envasaron en bandejas de polipropileno selladas con película plástica (cloruro de polivinilo de permeabilidad al oxígeno 580 ml m⁻² h⁻¹), donde fueron almacenadas en refrigeración (3 ± 1 °C) durante 1 o 7 días. Tras el almacenamiento, en ambos casos, se analizaron los compuestos volátiles. Para el análisis se utilizaron viales de espacio de cabeza de 20 ml en los cuales se dispusieron 3 g de muestra (previamente picada usando un procesador de carne), 5 ml de agua y 0,07 g de NaCl. Dichos viales fueron sellados herméticamente con tapón metálico y con septo de silicona/teflón (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU).

3.3. Análisis cromatográfico

Para el análisis de compuestos volátiles se utilizó un cromatógrafo de gases GC 7890A acoplado a un espectrómetro de masas (MS 5975C; Agilent System Zwingen, Suiza), equipado con un inyector automático de espacio de cabeza estático CTC Combi PAL (CTC Analytics AG).

Antes de proceder a la inyección se llevó a cabo el equilibrado de la muestra con el espacio de cabeza. Los viales fueron mantenidos a 60 °C en una incubadora con agitación intermitente (750 rpm, 5 s de marcha, 2 s de paro) por un tiempo total de 40 minutos. Posteriormente se extrajeron 600 µl del gas del espacio de cabeza con una velocidad de llenado de 100 µl/s mediante una jeringa de 2,5 ml Combi PAL (CTC Analytics AG) precalentada a 100 °C. El gas de espacio de cabeza se inyectó en el puerto de inyección del cromatógrafo, con una velocidad de 250 µl, el cual se mantuvo a 260 °C; se utilizó un liner directo de 2 mm de diámetro interno desactivado (Agilent, 18749-80220) y se operó en modo de división de flujo (split) con una relación 1:2. Los compuestos fueron separados utilizando una columna DB-5MS (60m x 250 µM x 0,250 µM; J&W Scientific, Folsom, CA, EEUU). El gas portador fue helio con una velocidad de flujo constante de 1,5 ml/min. La temperatura del horno se programó de la siguiente manera: un paso inicial a 37 °C por un minuto, seguido de un incremento lineal de 37 a 50 °C a una velocidad de 10 °C/min, posteriormente se llevó a 146 °C a 40 °C/min, se continuó hasta 200 °C a una velocidad de 20 °C/min, para finalmente llegar a 250 °C a 50 °C/min y mantener esa temperatura por 11 minutos. El espectrómetro de masas trabajó con una temperatura de la línea de transferencia de 260 °C y en modo de impacto de electrones de 69,9 eV. La detección se llevó a cabo en modo de escaneo completo con una región de barrido de m/z 40-150 a 10,68 escaneos por segundo.

3.4. Identificación y cuantificación de los compuestos volátiles

Los volátiles detectados fueron identificados comparando su espectro de masas con los de los compuestos presentes en la base de datos NIST/EPA/NIH-08 y, en su caso, en diversas referencias bibliográficas, principalmente el NIST Chemistry Webbook (<http://webbook.nist.gov/chemistry/>). Además, se utilizó una serie de n-alcenos, hidrocarburos de cadena lineal de 5 a 20 átomos de carbono, para calcular los tiempos de retención relativos (TRR) para cada volátil y, siempre que fue posible, las identificaciones se confirmaron por comparación de los valores de TRR estimados en este trabajo con valores de TRR publicados. El cálculo los TRR experimentales se realizó de acuerdo a David *et al.* (2002).

La mezcla de n-alcenos inyectada se obtuvo adicionando en un vial con cierre hermético 1 ml de n-hexano y 50 µl de cada uno de los siguientes

compuestos: n-pentano, n-heptano, n-octano, n-nonano, n-decano, n-undecano, n-dodecano, n-tridecano, n-tetradecano, n-pentadecano, n-hexadecano, n-heptadecano, n-octadecano, n-nonadecano y n-eicosano. Se mezcló el contenido del vial y se inyectó en el cromatógrafo 1 µl de la mezcla en las mismas condiciones descritas para las muestras. La cuantificación se realizó en base a las áreas de los picos de cada muestra y las áreas obtenidas por cantidades conocidas del hidrocarburo undecano, expresándose como ng de undecano/g de carne.

3.5. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los compuestos volátiles se realizó un análisis de varianza de dos vías. Para ello se tomó como fuente de variación la dieta suministrada a los animales, el día de almacenamiento de la muestra y la interacción entre la dieta y el tiempo de almacenamiento. Se utilizó el procedimiento GLM y la opción de LSMEANS con un nivel de significancia de $P < 0,05$ del programa estadístico SAS (SAS, 1999).

4. Resultados y Discusión

Se detectó en el espacio de cabeza de la carne de los corderos lechales un total de 18 compuestos volátiles; 16 de ellos fueron identificados y agrupados en las siguientes familias: hidrocarburos de cadena lineal (5), aldehídos alifáticos de cadena lineal (5), cetonas alifáticas (2), alcoholes alifáticos (2), ácidos alifáticos (1) y furanos (1). Prácticamente la totalidad de los compuestos detectados habrían tenido su origen en la degradación de los lípidos: pentano, hexano, heptano, octano, 1-octeno, pentanal, hexanal, heptanal, octanal, nonanal, 2-heptanona, 2,3-octanodiona, pentanol, 2-octen-1-ol y 2-pentilfuran, los cuales se forman durante el almacenamiento o el cocinado de la carne (Frankel, 1983; Mottram, 1998; Sivadier *et al.*, 2008). En la Tabla 1, solo se muestran los compuestos carbonílicos, ya que fueron los más abundantes y se consideran indicadores de oxidación de los lípidos de la carne (Gray and Monahan, 1992; Shahidi and Pegg, 1994; Shahidi and Zhong, 2010).

Tabla 1. Compuestos volátiles carbonílicos (ng de undecano/g) de muestras de carne de lechazo (*bíceps femoral*) cocinadas y almacenadas en refrigeración (4 °C) durante 1 o 7 días

	Día	CTRL	CARN	VITE	EEM	P		
						Dieta	Día	Dieta x día
Pentanal	1	23,1	23,6	18,2	2,47	0,670	<0,0001	0,060
	7	31,6	31,0	33,8				
Hexanal	1	198 ^b	198 ^b	134 ^a	22,2	0,415	<0,0001	0,010
	7	315 ^c	310 ^c	338 ^c				
Heptanal	1	4,51 ^b	4,52 ^b	3,16 ^a	0,500	0,238	<0,0001	0,043
	7	6,78 ^c	7,03 ^c	7,19 ^c				
Octanal	1	3,43 ^{ab}	3,62 ^b	2,38 ^a	0,436	0,598	<0,0001	0,008
	7	4,59 ^c	4,78 ^c	5,37 ^c				
Nonanal	1	9,11 ^b	9,95 ^b	5,80 ^a	1,371	0,187	<0,0001	0,020
	7	13,0 ^c	14,5 ^c	15,1 ^c				
2-Heptanona	1	0,69	0,68	0,20	0,375	0,913	0,0226	0,066
	7	0,88	0,78	1,49				
2,3-Octanodiona	1	1,55	1,60	0,89	0,472	0,954	<0,0001	0,148
	7	5,19	5,11	5,65				
ΣCVC	1	240 ^b	241 ^b	164 ^a	25,7	0,404	<0,0001	0,007
	7	377 ^c	373 ^c	407 ^c				

Tratamiento CTRL = grupo control sin antioxidantes, CARN = Ácido carnósido (0,096 g/kg de peso vivo), VITE (0,024 g de acetato de α-tocoferol/kg de peso vivo), CVC= Compuestos volátiles carbonilos, EEM = Error estándar de la media.

^{abc} Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas en dieta x día ($P<0,05$).

En la Tabla 1 se puede observar que en el día uno de almacenamiento las concentraciones de hexanal, heptanal, octanal, nonanal y la suma de carbonilos fueron más bajas en el tratamiento con vitamina E, mientras que en los otros dos tratamientos no se observaron diferencias. Esto significa que la vitamina E mejoró la estabilidad de los lípidos de las muestras de carne cocinada frente a la oxidación durante ese corto tiempo de almacenamiento en refrigeración. El efecto estabilizante de la vitamina E ya ha sido descrito en otros estudios (López-Bote *et al.*, 2001; Lauzurica *et al.*, 2005).

En el día 7, los niveles de carbonilos se incrementaron en todos los grupos; sin embargo, no se observaron diferencias entre los tratamientos. Lo anterior se podría explicar al menos parcialmente, debido a que a través del tiempo la

vitamina E disminuye su protección frente a la oxidación, ya que la vitamina se pierde/degrada durante el periodo de almacenamiento (Kerry *et al.*, 2000).

El efecto del ácido carnósico en estudios previos con corderos de cebo (mayores en peso y edad a los utilizados en el presente trabajo) han demostrado que niveles de suplementación más bajos (0,6 g/kg de ácido carnósico) a los utilizados en este estudio sí que afectaron a la producción de carbonilos en la carne con respecto a la carne de animales control. Este efecto fue similar a lo obtenido cuando se suplementó con vitamina E (Morán *et al.*, 2013). Sin embargo, en el mismo estudio se demostró que a dosis más altas (1,2 g/kg de ácido carnósico) de ácido carnósico en la dieta de corderos de cebo, se disminuyó el efecto antioxidante del ácido carnósico. Esta observación es acorde al concepto de hormesis (Calabrese, 2010), el cual describe un proceso donde una célula, organismo o grupo de organismos presentan una respuesta bifásica cuando se exponen al incremento en la cantidad de una sustancia o condición; en general, la exposición a una dosis baja provoca una respuesta benéfica mientras que una dosis alta causa inhibición o toxicidad.

5. Conclusiones

Se concluye que la utilización de ácido carnósico en las dosis estudiadas en este trabajo (0,096 g/kg de peso vivo) no incrementó la estabilidad de los lípidos la carne de cordero lechal cocinada durante su almacenamiento; sin embargo, y acorde con la dosis respuesta encontrada en trabajos anteriores, sería importante realizar estudios con dosis más bajas de ácido carnósico.

6. Bibliografía

- Addis, P.B., Emanuel, H.A., Bergmann, S.D., Zavoral, J.H. (1989). Capillary GC quantification of cholesterol oxidation-products in plasma-lipoproteins of fasted humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 7,179-182.
- Bernabéu, R., Tendero, A. (2005). Preference structure for lamb meat consumers. A Spanish case study. *Meat Science*, 71,464-470.
- Brewer, M. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10,221-247.
- Calabrese, E.J. (2010). Hormesis is central to toxicology, pharmacology and risk assessment. *Human and Experimental Toxicology*, 29,249-261.

- Chen, H.Y., Lin, Y.C., Hsieh, C.L. (2007). Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. *Food Chemistry*, 104,1418-24.
- Decker, E., Xu, Z. (1998). Minimizing rancidity in muscle foods. *Food Technology*, 52,54-59.
- Frankel, E.N. (1983). Volatile lipid oxidation products. *Progress in Lipid Research*, 22,1-33.
- Gorraiz, C., Beriain, M.J., Chasco, J., Iraizoz, M. (2000). Descriptive analysis of meat from young ruminants in Mediterranean systems. *Journal of Sensory Studies*, 15,137-150.
- Gray, J., Gomaa, E., Buckley, D. (1996). Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, 43,111-123.
- Gray, J.I., Monahan, F.J. (1992). Measurement of lipid oxidation in meat and meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 3,315-319.
- Jerónimo E., Alfaia, C.M.M., Alves, S.P., Dentinho, M.T.P., Prates, J.A.M., Vasta, V., José Santos-Silva, J., Bessa, R.J.B. (2012). Effect of dietary grape seed extract and *Cistus ladanifer* L. in combination with vegetable oil supplementation on lamb meat quality. *Meat Science*, 92,841-847.
- Jordán, M.J., Castillo, J., Bañón, S., Martínez-Conesa, C., Sotomayor, J.A. (2014). Relevance of the carnosic acid/carnosol ratio for the level of rosemary diterpene transfer and for improving lamb meat antioxidant status. *Food Chemistry*, 151,212-218.
- Kerry, J., O'Sullivan, M., Buckley, D., Lynch, P., Morrissey, P. (2000). The effects of dietary α -tocopheryl acetate supplementation and modified atmosphere packaging (MAP) on the quality of lamb patties. *Meat Science*, 56,61-66.
- Lauzurica, S., de la Fuente, J., Díaz, M.T., Álvarez, I., Pérez, C., Caneque, V. (2005). Effect of dietary supplementation of vitamin E on characteristics of lamb meat packed under modified atmosphere. *Meat Science*, 70,639-646.
- López-Bote, C.J., Daza, A., Soares, M., Berges, E. (2001). Dose-response effect of dietary vitamin E concentration on meat quality characteristics in light weight lambs. *Animal Science*, 73,451-458.

- Martínez-Cerezo, S., Sañudo, C., Panea, B., Olleta, J.L. (2005). Breed, slaughter weight and ageing time effects on consumer appraisal of three muscles of lamb. *Meat Science*, 69,797-805.
- Moñino, I., Martínez, C., Sotomayor, J., Lafuente, A., Jordán, M. (2008). Polyphenolic transmission to Segureño lamb meat from ewes' diet supplemented with the distillate from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56,3363-3367.
- Morán, L., Andrés, S., Bodas, R., Prieto, N., Giráldez, F.J. (2012a). Meat texture and antioxidant status are improved when carnosic acid is included in the diet of fattening lambs. *Meat Science*, 91,430-434.
- Morán, L., Rodríguez-Calleja, J., Bodas, R., Prieto, N., Giráldez, F.J., Andrés, S. (2012b). Carnosic acid dietary supplementation at 0.12% rates slows down meat discolouration in gluteus medius of fattening lambs. *Meat Science*, 90,789-795.
- Morán, L., Giráldez, F.J., Panseri, S., Aldai, N., Jordán, M.J., Chiesa, L.M., Andrés, S. (2013). Effect of dietary carnosic acid on the fatty acid profile and flavour stability of meat from fattening lambs. *Food Chemistry*, 138,2407-2414.
- Mottram, D.S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62,415-424.
- Napolitano, F., Cifuni, G., Pacelli, C., Riviezz, A., Girolami, A. (2002). Effect of artificial rearing on lamb welfare and meat quality. *Meat Science*, 60,307-315.
- Nieto, G., Díaz, P., Bañón, S., Garrido, M.D. (2010). Dietary administration of ewe diets with a distillate from rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis* L.): influence on lamb meat quality. *Meat Science*, 84,23-29.
- Nieto, G., Estrada, M., Jordán, M.J., Garrido, M.D., Bañón, S. (2011). Effects in ewe diet of rosemary by-product on lipid oxidation and the eating quality of cooked lamb under retail display conditions. *Food Chemistry*, 124, 1423-1429.
- Ortuño, J., Serrano, R., Jordán, M.J., Bañón, S., (2014). Shelf life of meat from lambs given essential oil-free rosemary extract containing carnosic acid plus carnosol at 200 or 400 mg kg⁻¹. *Meat Science*, 96,1452-1459.

- Osorio, M.T., Zumalacárregui, J.M., Figueira, A., Mateo, J. (2007). Fatty acid composition in subcutaneous, intermuscular and intramuscular fat deposits of suckling lamb meat: effect of milk source. *Small Ruminant Research*, 73,127-134.
- Osorio, M.T., Zumalacárregui, J.M., Herrera, E.A., Figueira, A., Mateo, J. (2007). Effect of the type of milk used for feeding suckling lambs on technological quality and volatile compounds of suckling lamb meat. *Small Ruminant Research*, 78,1-12
- Pokorný, J. (2007). Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants?. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109,629-642.
- Rubió, L., Motilva, M.J., Romero, M.P. (2013). Recent advances in biologically active compounds in herbs and spices: a review of the most effective antioxidant and anti-inflammatory active principles. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53,943-953.
- Sañudo, C., Alfonso, M., San Julian, R., Thorkelsson, G., Valdimarsdottir, T., Zygoiannis, D., Stamataris, C., Piasentier, E., Mills, C., Berge, P. (2007). Regional variation in the hedonic evaluation of lamb meat from diverse production systems by consumers in six European countries. *Meat Science*, 75,610-621.
- SAS Institute Inc., 1999. SAS/STAT User's Guide, Version 8, SAS Publishing. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Shahidi, F., Pegg, R.B. (1994). Hexanal as an indicator of meat flavor deterioration. *Journal of Food Lipids*, 1,177-186.
- Shahidi, F., Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Review*, 39,4067-4479.
- Sivadier, G., Ratel, J., Bouvier, F., Engel, E. (2008). Authentication of meat products: determination of animal feeding by parallel GC–MS analysis of three adipose tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56,9803-9812.
- Smeti, S., Atti, N., Mahouachi, M., Munoz, F. (2013). Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils to increase the shelf life of Barbarine light lamb meat. *Small Ruminant Research*, 113,340-345.

- Teixeira, A., Batista, S., Delfa, R., Cadavez, V. (2005). Lamb meat quality of two breeds with protected origin designation. Influence of breed, sex and live weight. *Meat Science*, 71,530-536.
- Wilches, D., Rovira, J., Jaime, I., Palacios, C., Lurueña-Martínez, M.A., Vivar-Quintana, A.M., Revilla, I. (2011). Evaluation of the effect of a maternal rearing system on the odour profile of meat from suckling lamb. *Meat Science*, 88,415-423.